



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

**PARASITOSSES PULMONARES E GASTROINTESTINAIS EM FELINOS DOMÉSTICOS  
NO MINHO, PORTUGAL**

BÁRBARA DE MIRANDA MATOS

**CONSTITUIÇÃO DO JÚRI**

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira Carvalho

Mestre Telmo Renato Landeiro Pina Nunes

**ORIENTADOR**

Doutor Luís Manuel Madeira de  
Carvalho

**CO-ORIENTADOR**

Dr. Fernando Costa Silva

2016  
LISBOA

---



UNIVERSIDADE DE LISBOA  
Faculdade de Medicina Veterinária

PARASITOSE PULMONARES E GASTROINTESTINAIS EM FELINOS DOMÉSTICOS NO  
MINHO, PORTUGAL

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA

BÁRBARA DE MIRANDA MATOS

CONSTITUIÇÃO DO JÚRI

Doutor José Augusto Farraia e Silva Meireles

Doutor Luís Manuel Madeira Carvalho

Mestre Telmo Renato Landeiro Pina Nunes

ORIENTADOR

Doutor Luís Manuel Madeira de  
Carvalho

CO-ORIENTADOR

Dr. Fernando Costa Silva

2016  
LISBOA

---

## Agradecimentos

A realização e apresentação desta dissertação simbolizam a finalização de um percurso que se revelou muito mais proveitoso do que alguma vez foi imaginado. Ficam aqui os meus mais sinceros e profundos agradecimentos a todas as pessoas que o tornaram possível.

Um grande e sincero obrigado ao meu orientador, Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho. Obrigado pelo entusiasmo e confiança transmitidos desde o primeiro momento. Obrigado por promover o espírito crítico e gosto pela parasitologia que levarei para o resto da vida.

Ao Dr. Fernando Costa Silva, meu co-orientador, por todos os conhecimentos transmitidos e por me ajudar a crescer pessoal e profissionalmente. Um abraço a toda a equipa da Clínica Veterinária de Amares, do Minho e de Vila Verde, em especial à Dr.<sup>a</sup> Patrícia Sá e à Marisa Santos.

À Dr.<sup>a</sup> Ana Margarida Alho, pela sua curiosidade, energia contagiante e disponibilidade para as todas as minhas dúvidas. Obrigada por transmitires estas qualidades, desenvolveres o meu gosto pela investigação e por me contactares sempre com as melhores notícias possíveis.

À Dr.<sup>a</sup> Lúdia Gomes por todos os seus ensinamentos, ajuda na seleção e melhoramento de imagens e auxílio na pesquisa de quistos de *Giardia*.

Ao Professor Telmo, pela disponibilidade e preciosa orientação no tratamento estatístico dos dados recolhidos.

A todos os veterinários, enfermeiros e rececionistas do The Wylie Veterinary Center, por tornarem a minha jornada o mais proveitosa possível. Agradeço especialmente à Dr.<sup>a</sup> Carolina Albuquerque e ao Dr. Humberto Abreu, que me mostraram o quão longe se pode chegar no mundo da Medicina Veterinária.

Um obrigado a todos os voluntários e funcionários com quem me cruzei nas minhas deslocações aos gatis e que me deixaram surpreendida com a dedicação e compaixão diária prestada a estes animais. Um obrigado a todos os proprietários que, entre risos, disponibilizaram as fezes dos seus animais para que eu as pudesse analisar.

Um agradecimento especial, em conjunto, ao Professor Doutor Luís Manuel Madeira de Carvalho, Dr.<sup>a</sup> Ana Alho, Dr. Richard Doyle, Dr. Vito Colella, e Dr. Domenico Otranto. Um sentido obrigado pela ajuda indispensável que elevou a qualidade do artigo "*Crenosoma vulpis* infection in a four-month old puppy".

Aos meus colegas e amigos da Faculdade, em especial à Susana, Marta, Mariline e Gonçalo. Obrigado pela vossa amizade, partilha de preocupações e por todos os momentos de palermices (que não foram poucos).

Aos meus amigos "de Braga", em especial à Sofia, Lara, Daniela e Constança por viverem com imensa alegria todas as minhas conquistas.

Um obrigado à minha família, em especial aos meus avós (Lídia e Henrique), aos meus padrinhos (Jorge e Cristina), às minhas primas (Catarina, Joana e Suzana) e ao meu Tio Zé. À minha madrinha Isabel, avó Lourdes e avô Manel que, apesar de ausentes, acompanham-me em todos os momentos mais difíceis.

Ao meu irmão Duarte, pela sua amizade singular e por manter um firme, mas necessário, travão em todos os meus fanatismos.

E como os últimos vêm sempre em primeiro, um especial agradecimento aos meus pais, Henrique e Zita, sem os quais nada disto seria possível. Por todos os melhores (e sempre acertados) conselhos, por me proporcionarem a melhor educação possível e por me apoiarem incondicionalmente em todas as etapas da minha vida.

## Resumo

Os gatos podem albergar uma grande variedade de espécies parasitárias, algumas delas responsáveis por zoonoses importantes, como *Toxocara cati*. Outros parasitas não zoonóticos começam a ser cada vez mais reportados na Europa e podem causar sinais clínicos com importância clínica significativa, como *Aelurostrongylus abstrusus*. Os registos parasitológicos em felinos são escassos em Portugal e praticamente inexistentes na região do Minho. Sendo assim, um estudo epidemiológico foi efetuado nos distritos de Braga e Viana do Castelo, de modo a estudar a prevalência de parasitas gastrointestinais e pulmonares em gatos mantidos em abrigos ou gatos com proprietário com acesso ao exterior.

Entre Fevereiro e Abril de 2016, 205 amostras fecais foram colhidas e analisadas através das seguintes técnicas: Flutuação de Willis, Sedimentação Natural, Esfregaço fecal corado pelo método de Ziehl-Neelsen modificado e Baermann. No cômputo geral, 63,9% (131/205) das amostras foram positivas para pelo menos uma forma parasitária e 21% (43/205) demonstraram infeções mistas. Os nemátodes foram os parasitas mais prevalentes com 92,4% (121/131), seguidos dos protozoários com 21,4% (28/131). Os parasitas detetados foram *Toxocara cati*, 45,9% (94/205), *Aelurostrongylus abstrusus* 22,4% (46/205), *Cystoisospora rivolta* 9,8% (20/205), Ancylostomatidae 5,9% (12/205) e *Cystoisospora felis* 5,4% (11/205).

Este estudo reporta uma elevada prevalência de parasitismo entre a população felina na região do Minho, alertando para o fato de os gatos com infeções parasitárias assintomáticas poderem desempenhar um fator de risco para a saúde animal e humana. Os resultados deste estudo sublinham a necessidade urgente de adotar estratégias preventivas e de controlo para agentes parasitários em felinos domésticos na região do Minho.

Palavras-chave: Parasitas gastrointestinais, parasitas pulmonares, gatos, Minho, Portugal

## Abstract

Cats may harbour a large variety of parasite species, some of them responsible for important zoonosis, such as *Toxocara cati*. Other non-zoonotic parasites are increasingly reported throughout Europe and may cause illness of major clinical importance, like *Aelurostrongylus abstrusus*. Information regarding internal parasite occurrence in domestic cats from Portugal is scant and practically inexistent in Minho region. Thereby, an epidemiological survey was conducted in cat shelters belonging to associations and owned cats with outdoor access from Braga and Viana do Castelo to study the current prevalence of gastrointestinal and lung parasites.

Between February and April 2016, 205 cat faecal samples were collected and analysed using coprological techniques: Willis Flotation, Natural Sedimentation, Faecal Smear stained with Ziehl-Neelsen modified and Baermann technique. Overall, 63,9% (131/205) of the samples were positive for at least one parasitic agent and 21% (43/205) showed co infections. Nematodes were the most prevalent parasites, 92,4% (121/131), followed by Protozoa, 21,4% (28/131).

The parasites detected were *Toxocara cati*, 45,9% (94/205), *Aelurostrongylus abstrusus* 22,4% (46/205), *Cystoisospora rivolta* 9,8% (20/205), Ancylostomatidae 5,9% (12/205) and *Cystoisospora felis* 5,4% (11/205).

This survey revealed a high prevalence level of parasitism among the cat population of Northwestern Portugal, alerting for the fact that cats with asymptomatic or untreated parasitic infections pose ongoing risks for animal and human health. Data from this study highlight the urgent necessity to adopt strategies to prevent and control parasitic agents in domestic cats in Minho region.

Keywords: Gastrointestinal parasites, lungworm, cats, Minho, Portugal

# Índice

Resumo .....	iv
Abstract.....	v
Lista de Figuras .....	x
Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos .....	xiii
<b>I - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO ESTÁGIO CURRICULAR .....</b>	<b>1</b>
1. Clínica Veterinária de Amares .....	1
1.1. Consultas externas .....	1
1.2. Internamento .....	1
1.3. Exames complementares de diagnóstico.....	1
1.4. Cirurgia e manutenção da anestesia.....	2
2. The Wylie Veterinary Center, Upminster, Londres, Reino Unido .....	3
2.1. Consultas externas .....	3
2.2. Exames complementares de diagnóstico.....	3
2.3. Cirurgia e manutenção da anestesia.....	3
2.4. Dirty ops .....	3
2.5. Case report “ <i>Crenosoma vulpis</i> infection in a four-month old puppy” .....	4
<b>II - INTRODUÇÃO .....</b>	<b>5</b>
<b>III – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA .....</b>	<b>6</b>
1. Parasitas Pulmonares .....	6
1.1. Nemátodes pulmonares.....	6
1.1.1. Ciclo de vida .....	6
1.1.2. Epidemiologia.....	8
1.1.3. Fisiopatologia e sinais clínicos .....	10
1.1.4. Diagnóstico e identificação .....	11
1.1.5. Tratamento e prevenção.....	14
2. Parasitas Gastrointestinais em felinos.....	16
2.1. Nemátodes Gastrointestinais.....	16
2.1.1. <i>Toxocara cati</i> .....	16
2.1.1.1. Ciclo de vida.....	16
2.1.1.2. Epidemiologia.....	17
2.1.1.3. Fisiopatologia e sinais clínicos .....	19
2.1.1.4. Identificação e diagnóstico .....	19

2.1.1.5. Tratamento e prevenção .....	19
2.1.1.6. Risco zoonótico .....	20
 2.1.2. Família Ancylostomatidae .....	 21
2.1.2.1. Ciclo de vida.....	21
2.1.2.2. Epidemiologia.....	22
2.1.2.3. Fisiopatologia e sinais clínicos .....	23
2.1.2.4. Identificação e diagnóstico .....	23
2.1.2.5. Tratamento e prevenção .....	23
2.1.2.6. Risco zoonótico .....	23
 2.3. Protozoários Gastrointestinais.....	 24
2.3.1. <i>Cystoisospora</i> spp. ....	24
2.3.1.1. Ciclo de vida.....	24
2.3.1.2. Epidemiologia.....	25
2.3.1.3. Fisiopatologia e sinais clínicos .....	26
2.3.1.4. Identificação e diagnóstico .....	27
2.3.1.5. Tratamento e prevenção .....	27
 2.3.2. <i>Giardia</i> e <i>Cryptosporidium</i> .....	 29
2.3.2.1. Ciclo de vida.....	29
2.3.2.2. Epidemiologia.....	29
2.3.2.3. Fisiopatologia e sinais clínicos .....	31
2.3.2.4. Identificação e diagnóstico .....	31
2.3.2.5. Tratamento e prevenção .....	32
2.3.2.6. Risco zoonótico .....	33
 2.4. Céstodes.....	 34
2.4.1. Ciclo de vida.....	34
2.4.2. Epidemiologia .....	34
2.4.3. Fisiopatologia e Sinais Clínicos.....	35
2.4.4. Identificação e Diagnóstico.....	36
2.4.5. Tratamento e Prevenção .....	36
2.4.6. Risco zoonótico.....	36



<b>IV ESTUDO - Parasitoses pulmonares e gastrointestinais em felinos domésticos no Minho, Portugal.....</b>	<b>38</b>
<b>1. Objetivos.....</b>	<b>38</b>
<b>2. Material e métodos.....</b>	<b>38</b>
2.1. Caracterização das amostras e Área de Estudo .....	38
2.2. Colheita, transporte e acondicionamento das amostras.....	38
2.3. Análises laboratoriais .....	38
2.3.1. Técnica de Baermann.....	38
2.3.2. Flutuação de Willis e Sedimentação natural.....	39
2.3.3. Esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificado.....	40
2.4. Análise estatística .....	41
<b>3. Resultados .....</b>	<b>42</b>
3.1. Área de Estudo.....	42
3.2. Clima.....	42
3.3. Caracterização das amostras.....	43
3.4. Origem das amostras .....	44
3.4.1. Associação A.....	44
3.4.2. Associação B.....	45
3.4.3. Associação C.....	45
3.4.4. Associação D.....	46
3.4.5. Particulares .....	46
3.5. Pesquisa de Parasitas Gastrointestinais e Pulmonares.....	46
3.5.1. Resultados da pesquisa de parasitas pulmonares .....	49
3.5.1.1. Resultados globais .....	49
3.5.1.2. Resultados a nível distrital e por concelho .....	50
3.5.2. Resultados da pesquisa de Parasitas Gastrointestinais.....	51
3.5.2.1. Resultados Globais.....	51
3.5.2.2. Resultados a nível distrital .....	51
3.5.2.3. Resultados por parasitas .....	53
3.5.2.3.1. Prevalência de <i>Toxocara cati</i> .....	53
3.5.2.3.2. Prevalência de Ancilostomatídeos .....	54
3.5.2.3.3. Prevalência de <i>Cystoisospora</i> spp.....	55
3.5.2.3.4. Pesquisa de <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp.....	56
3.6. Análise estatística dos resultados .....	56

<b>4. Discussão .....</b>	<b>58</b>
<b>4.1. Caracterização da amostra .....</b>	<b>58</b>
<b>4.2. Resultados Globais.....</b>	<b>58</b>
<b>4.3. Resultados por conelho .....</b>	<b>60</b>
<b>4.4. Nemátodes Pulmonares .....</b>	<b>61</b>
<b>4.5. Nemátodes Gastrointestinais.....</b>	<b>63</b>
<b>4.6. Protozoários Gastrointestinais.....</b>	<b>66</b>
<b>4.7. Céstodes.....</b>	<b>68</b>
 <b>V. CONCLUSÃO .....</b>	 <b>70</b>
 <b>VI. BIBLIOGRAFIA.....</b>	 <b>71</b>
 <b>VII. ANEXOS .....</b>	 <b>1</b>
<b>ANEXO A .....</b>	<b>1</b>
<b>ANEXO B .....</b>	<b>3</b>
<b>ANEXO C .....</b>	<b>8</b>

## Lista de Figuras

<b>Figura 1</b> - Ressecção de Corpo estranho linear. A) Aspeto do intestino delgado “em concertina” B e C) Corpo Estranho linear removido do intestino delgado. (Originais).....	2
<b>Figura 2</b> - Larva de primeiro estágio de <i>Crenosoma vulpis</i> detetada através da técnica de Baermann (original).....	4
<b>Figura 3</b> - Ciclo de vida indireto de <i>Aelurostrongylus abstrusus</i> incluindo as vias alternativas de infeção (Giannelli, Cantacessi, Colella, Dantas-Torres & Otranto, 2015).....	7
<b>Figura 4</b> - Técnica de Baermann: Copos cónicos com amostras fecais submersas (original). .....	39
<b>Figura 5</b> - Técnica de Flutuação de Willis e Sedimentação realizadas em simultâneo com solução saturada de Sacarose A: Menisco convexo B: Colocação da lamela C: Sedimento. (Originais). ....	40
<b>Figura 6</b> - Esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificado : A) realização do esfregaço fecal B) aspeto do esfregaço fecal antes da coloração C) secagem dos esfregaços ao ar D) aspeto de coloração de esfregaços com fucsina E) aspeto final dos esfregaços corados. (Originais). ....	41
<b>Figura 7</b> - Precipitação Total em mm no mês de Fevereiro de 2016 em Portugal Continental (Boletim climatológico de Fevereiro de 2016, IPMA).....	43
<b>Figura 8</b> - Origem geográfica das amostras fecais por município de recolha (n=205).....	43
<b>Figura 9</b> - A) Instalações do gatil da Associação A (seta branca) B) vista interior do gatil, englobando a zona de descanso e recreio C) Proximidade com área verde D) Carapaça de caracol parcial. (Originais). ....	44
<b>Figura 10</b> - A) Zonas de comedouros e caixas de areia. B) Zona de recreio. Fotografias gentilmente cedidas pela associação B.....	45
<b>Figura 11</b> - A) Zona de descanso B) zona das caixas de areia C) zona de alimentação. Fotografias gentilmente cedidas pela Dra. Guida Brito.....	45
<b>Figura 12</b> - Infeção mista com ovos de <i>T. cati</i> e Ancilostomatídeo (original). ....	47
<b>Figura 13</b> - Distribuição das prevalências totais de parasitas gastrointestinais e pulmonares nos coneelhos estudados.....	48
<b>Figura 14</b> - L1 de <i>Aelurostrongylus abstrusus</i> recuperadas através da técnica de Baermann (originais). ....	49
<b>Figura 15</b> - Distribuição das prevalências encontradas para <i>A. abstrusus</i> nos coneelhos estudados. ....	50
<b>Figura 16</b> - Formas parasitárias de <i>T. cati</i> . A e B) Ovos observados pelo método de flutuação de Willis. C) Verme adulto. (Originais). ....	53
<b>Figura 17</b> - Distribuição das prevalências encontradas para <i>T. cati</i> nos coneelhos estudados .....	53

<b>Figura 18</b> - Ovos de Ancilostomatídeo observados pelo método de flutuação de Willis (original). .....	54
<b>Figura 19</b> - Distribuição das prevalências encontradas para Ancilostomatídeos nos conelhos estudados. ....	54
<b>Figura 20</b> - <i>Cystoisospora</i> spp. A) <i>C. rivolta</i> não esporulado; B) <i>C. rivolta</i> esporulado; C) <i>C. felis</i> não esporulado; D) <i>C. felis</i> esporulado. (Originais).....	55
<b>Figura 21</b> - Distribuição das prevalências encontradas para <i>Cystoisospora</i> spp. nos conelhos estudados. ....	55
<b>Figura 22</b> - Distribuição e prevalência dos parasitas gastrointestinais e pulmonares detetados nos diferentes conelhos.....	57

## Lista de Tabelas

<b>Tabela 1</b> - Estudos epidemiológicos que detetaram <i>A. abstrusus</i> em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo. ....	9
<b>Tabela 2</b> - Estudos epidemiológicos que detetaram <i>T. cati</i> em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo. ....	18
<b>Tabela 3</b> - Estudos epidemiológicos que detetaram Ancilostomatídeos em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo. ....	22
<b>Tabela 4</b> - Comparação do ciclo de vida das espécies de <i>Cystoisospora rivolta</i> e <i>Cystoisospora felis</i> (Shah 1971; Dubey, 1979). ....	24
<b>Tabela 5</b> - Estudos epidemiológicos que detetaram <i>Cystoisospora</i> spp., <i>C. felis</i> e <i>C. rivolta</i> em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo .....	26
<b>Tabela 6</b> - Tratamento de cistoisossorose em gatos (Bowman et al, 2002). ....	28
<b>Tabela 7</b> - Estudos epidemiológicos que pesquisaram <i>Giardia</i> spp. e <i>Cryptosporidium</i> spp. em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo. ....	30
<b>Tabela 8</b> - Estudos epidemiológicos que detetaram céstodes em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo. ....	35
<b>Tabela 9</b> - Caracterização da infeção por parasitas gastrointestinais e pulmonares nos conelhos de Braga e Viana do Castelo. ....	48
<b>Tabela 10</b> - Caracterização da prevalência de <i>A. abstrusus</i> , frequência e respetivos intervalos de confiança nos diferentes conelhos. ....	50
<b>Tabela 11</b> - Caracterização das amostras com parasitas gastrointestinais presentes no distrito de Viana do Castelo através da prevalência, frequência e respetivos intervalos de confiança .....	51
<b>Tabela 12</b> - Caracterização das amostras com parasitas gastrointestinais presentes no distrito de Braga através da prevalência, frequência e respetivos intervalos de confiança. ....	52
<b>Tabela 13</b> - Caracterização da prevalência de <i>T. cati</i> , frequência e respetivos intervalos de confiança nos diferentes conelhos .....	53
<b>Tabela 14</b> - Caracterização da prevalência de Ancilostomatídeos, frequência e respetivos intervalos de confiança nos diferentes conelhos. ....	54
<b>Tabela 15</b> - Caracterização da prevalência de <i>Cystoisospora</i> spp., frequência e respetivos intervalos de confiança nos diferentes conelhos. ....	55

## Lista de Gráficos

<b>Gráfico 1</b> – Caracterização das infeções mistas observadas .....	47
--	----

## Lista de Abreviaturas, Siglas e Símbolos

ADN - Ácido desoxirribonucleico

AMP – Amprólio

CAMV – Centro de Atendimento Médico Veterinário

CVA – Clínica Veterinária de Amares

ELISA – *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay*

FMV – UL – Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa

HI – Hospedeiro intermediário

HP – Hospedeiro paraténico

Kg – Quilograma

L1 – Larvas de estágio um ou 1º estágio

L2 – Larvas de estágio dois ou 2º estágio

L3 – Larvas de estágio três ou 3º estágio

L4 – Larvas de estágio quatro ou 4º estágio

L5 – Larvas de estágio cinco ou 5º estágio

LBA – Lavagem bronco alveolar

LPG – Larvas por grama

mg – Miligrama

mm – Milímetro

NaCl – Cloreto de Sódio

OM – Ornetoprim

PCR – Polymerase chain reaction

PO – *per os*

PPP – Período pré-patente

PP – Período patente

SC – (via) Subcutânea

spp. – Espécies

SD - Sulfadiazine

SDM - Sulfadimetoxina

TAC – Tomografia axial computadorizada

TRI – Trimetoprim

WVC – Wylie Veterinary Center

% - Por cento

µm – Micrómetros

°C – Grau Celsius

® - Marca registada

## **I - ATIVIDADES DESENVOLVIDAS NO ESTÁGIO CURRICULAR**

### **1. Clínica Veterinária de Amares**

O estágio curricular do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária realizou-se no contexto de clínica de animais de companhia, na Clínica Veterinária de Amares (CVA), sob orientação do Dr. Fernando Costa Silva. Teve início no dia 13 de julho de 2015 e término no dia 18 de setembro de 2015, com um total de 550 horas que foram distribuídas pelas seguintes tarefas que serão descritas:

#### **1.1. Consultas externas**

Durante o estágio foi possível assistir às consultas, realizar exame físico e auxiliar na contenção do animal quando necessário. As primeiras consultas, consultas de vacinação, consultas de foro dermatológico e gastro intestinal, foram as consultas mais frequentes.

O acompanhamento de consultas permitiu colocar em prática os conhecimentos teóricos adquiridos na Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa (FMV – UL) e a importância do direcionamento da entrevista ao proprietário, aquando da elaboração da respetiva anamnese. Foi também nesta área que foi assimilada a importância do conhecimento da situação epidemiológica onde a CVA está inserida, ajudando na escolha de exames complementares. Foram ainda abordadas, durante algumas consultas de vacinação as parasitoses pulmonares em felinos, sendo facultado um panfleto aos proprietários (Anexo A), de modo a sensibilizar a comunidade de proprietários para esta temática.

#### **1.2. Internamento**

As responsabilidades nesta área foram várias, como execução de exame físico diário (ou várias vezes ao dia se o caso assim o exigisse), cálculo de doses dos diversos fármacos e de taxas de fluidoterapia, administração de medicação nos horários previamente definidos, alimentação e manutenção da higiene e bem-estar dos animais internados.

#### **1.3. Exames complementares de diagnóstico**

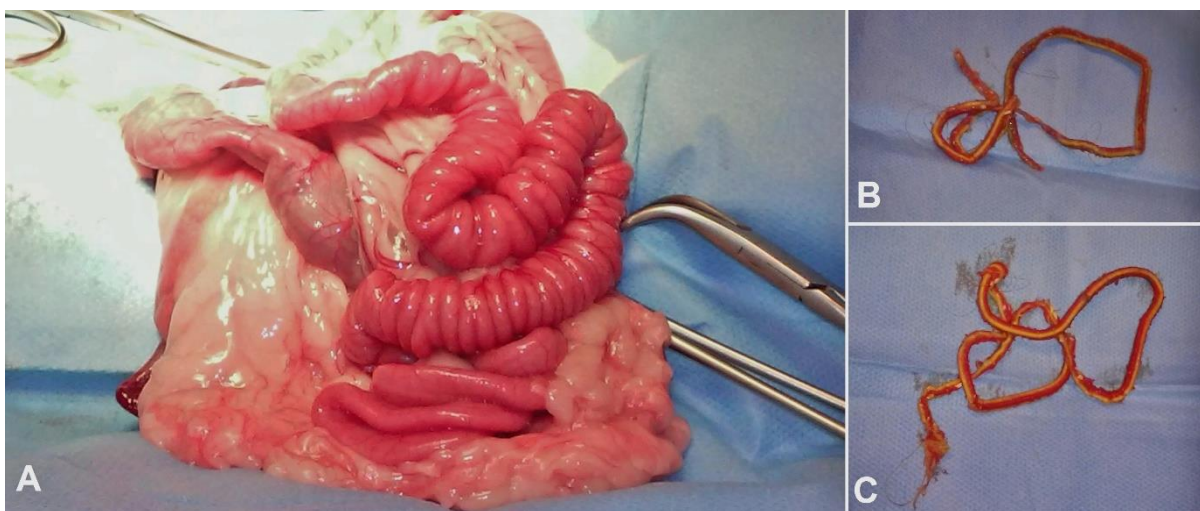
Foi possível a realização de microhematócritos, leitura de densidade urinária com uso do refratómetro, flutuação de Willis, sedimentação natural, técnica de Baermann, coloração de lâminas de zaragatoas auriculares, e realização de raspagens superficiais e profundas. Durante a realização de exames radiográficos, o auxílio do posicionamento do animal e processamento da película foram outras responsabilidades atribuídas. A interpretação de resultados era efetuada com o médico veterinário, sendo discutidas as possíveis causas das alterações observadas. Durante a realização de ecografias e ecocardiografias, foi efetuada a contenção dos animais, com observação e discussão simultânea sobre os achados ecográficos.

#### 1.4. Cirurgia e manutenção da anestesia

Nas cirurgias realizadas na CVA, foi possível participar na preparação pré-cirúrgica do animal, incluindo a colocação de cateter venoso, administração medicação pré cirúrgica, tricotomia, desinfecção da zona cirúrgica e monitorização da anestesia, dos sinais vitais, como frequência cardíaca, frequência respiratória, saturação oxigénio, capnografia e pressão arterial.

As cirurgias mais frequentes foram as cirurgias eletivas como ovariectomia e orquiectomia, onde foi permitido à estagiária participar como ajudante do cirurgião. Outras cirurgias observadas foram resolução de enterotrópion, ressecção de corpo estranho linear (Fig.1), amputação de cauda e resolução de hérnia inguinal.

**Figura 1** - Ressecção de Corpo estranho linear. A) Aspeto do intestino delgado “em concertina” B e C) Corpo Estranho linear removido do intestino delgado. (Originais).





## **2. The Wylie Veterinary Center, Upminster, Londres, Reino Unido**

O estágio extra curricular no The Wylie Veterinary Center (WVC) teve início no dia 21 de setembro de 2015 e término no dia 29 de janeiro de 2016, sob a orientação dos Drs. Morkel Piennar e Richard Doyle. As atividades desenvolvidas no WVC foram semelhantes às ocorridas na CVA, com a diferença de um maior e mais diversificado volume de casos observados, o que permitiu o acompanhamento de um maior número de afeções.

### **2.1. Consultas externas**

A estagiária teve oportunidade de realizar consultas de vacinação, onde foi efetuado, exame físico, administração do protocolo vacinal e discussão dos vários tratamentos antiparasitários disponíveis. Durante as consultas externas foi ainda possível a observação de fundo de olho através do oftalmoscópio, observação do canal auditivo e a realização de exame físico ortopédico.

### **2.2. Exames complementares de diagnóstico**

A componente imagiológica foi amplamente desenvolvida neste estágio. Houve a possibilidade de realizar várias ecografias abdominais e algumas ecocardiografias sob orientação de médicos veterinários certificados em diagnóstico de imagem. No final do estágio extra curricular, a estagiária já era capaz de aceder a todos os principais órgãos abdominais, diagnosticar as alterações mais comuns que envolvem cada órgão e realizar cistocenteses ecoguiadas. Para além de ecografias, também foram observadas várias endoscopias, rinoscopias e broncoscopias, onde a estagiária foi muitas vezes responsável pela monitorização da sedação ou anestesia.

### **2.3. Cirurgia e manutenção da anestesia**

Para além da preparação pré-cirúrgica do animal, foi possível participar como ajudante do cirurgião, maioritariamente, em cirurgias ortopédicas. De destacar a nossa presença nas cirurgias do Dr. Christof Stock, médico veterinário especialista diplomado pelo Colégio Europeu, em que a estagiária teve a possibilidade de ser ajudante de cirurgião em: cinco *Tibial Plateau Leveling Osteotomy*, uma revisão de uma prótese de anca, uma artroscopia e uma resolução de fratura pélvica. Foi possível a realização de duas orquiectomias caninas, uma felina e uma ovariectomia pela linha média numa gata, sob supervisão do Dr. Humberto Abreu.

### **2.4. Dirty ops**

Esta área era usada para a realização da maioria dos procedimentos clínicos, desde os mais simples como colheitas de sangue ou colocação de cateteres endovenosos, até procedimentos mais complexos como destarizações. Nesta área foi possível a realização

de vários procedimentos clínicos como: limpezas auriculares e das glândulas anais sob sedação, enemas, destartarizações, punção por aspiração com agulha fina (*fine needle aspirations*), drenagem de otohematomas e medição de pressão arterial.

## 2.5. Case report “*Crenosoma vulpis* infection in a four-month old puppy”

Foi possível a realização de um case report (Anexo B), aceite para publicação na revista *Helminthologia*, realizado em colaboração com o WVC, FMV - UL e Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Bari.

**Figura 2** – Larva de primeiro estágio (L1) de *Crenosoma vulpis* detetada através da técnica de Baermann (original).



Os resultados originais desta dissertação irão ser apresentados, em forma de comunicação oral, na 29ª edição do Congresso Nacional da Sociedade Italiana de Parasitologia (SolPa) em Bari, em 23 de Junho de 2016 (Anexo C).

## II - INTRODUÇÃO

A origem da palavra “parasita” não está relacionada com biologia. De origem grega, parasita designava uma pessoa que esperava por uma refeição à porta da casa de uma família abastada. A ideia de receber uma refeição gratuita preservou a nossa noção moderna deste conceito, sendo que um parasita é um animal ou vegetal que sobrevive através de outro ser vivo (Fleischer, 2006).

Nos últimos anos a comunidade científica médico-veterinária tem direcionado a sua atenção e estudos para os parasitas extra intestinais, que são emergentes em vários países por resultado das mudanças climáticas a nível global (Traversa, 2012), como é o exemplo do parasita dos felinos, *Aelurostrongylus abstrusus* (Traversa, Di Cesare & Conboy, 2010).

Esta nova preocupação conduziu à ideia errónea que os parasitas intestinais já não são uma preocupação para a saúde animal, havendo cada vez mais a crença que a aplicação rotineira de antiparasitários de largo espectro mitiga a sua transmissão e impacto sanitário público (Robertson & Thompson, 2002). Esta crença minimizou a importância dos “parasitas intestinais comuns” e do papel do médico veterinário como agente controlador de parasitas com impacto na saúde animal e humana. É necessário contrariar este baixo nível de interesse em relação aos parasitas intestinais “clássicos”, destacando que vários são helmintes zoonóticos, endémicos e ubiqüitários a nível global, e a sua difusão é igualmente afetada pelas alterações ecológicas atuais (Traversa, 2012).

Os gatos têm recebido cada vez mais destaque como animal de estimação e, devido ao facto de serem bastante distintos a vários níveis patológicos dos cães, levou ao aumento do número de clínicas veterinárias “cat-friendly” e hospitais dedicados exclusivamente a este animal. No entanto, este destaque não se tem verificado a nível parasitológico, tendo em conta que há muito menos registos disponíveis em gatos sobre as suas parasitoses gastrintestinais e pulmonares, quando comparada com a informação disponível para cães (Beugnet et al, 2014). Portugal não é exceção, contando com poucos estudos sobre parasitoses em gatos (Payo Puente et al, 2008; Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, Gomes & Meireles, 2009; Duarte et al, 2010; Ferreira et al. 2011; Nabais, 2012; Waap, Gomes & Nunes, 2014).

O tema inicialmente proposto para esta dissertação foi “Aelurostrongilose em felinos na região do Minho”. Mas, tendo em conta os fatos anteriormente mencionados e de modo a extrair o máximo de informação possível das amostras recolhidas, foram incluídos os parasitas gastrointestinais.

Tendo em a conta inexistência de registos parasitológicos a nível regional e a escassez a nível nacional, colocou-se a seguinte questão: Que parasitas gastrointestinais e pulmonares circulam na população felina doméstica na região do Minho?

### III – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 1. Parasitas Pulmonares

##### 1.1. Nemátodes pulmonares

A superfamília Metastrongyloidea engloba nemátodes que afetam o sistema cardiopulmonar de animais vertebrados e são transmitidos por moluscos (Anderson, 2000). Os metastrongilídeos reportados em gatos domésticos (*Felis catus*) são: *Aelurostrongylus abstrusus*, *Troglostrongylus* spp., *Oslerus rostratus*, *Gurltia paralyans* (Bowman, Hendrix, Lindsay & Barr, 2002) e recentemente o *Angiostrongylus chabaudi* (Varcasia et al, 2014). Durante bastante tempo, *Aelurostrongylus abstrusus* (Strongylida: Angiostrongylidae) foi considerado o único metastrongilídeo em gatos domésticos (Anderson, 2000; Bowman et al, 2002). Alguns deles, como *Troglostrongylus subcrenatus* ou *Oslerus rostratus*, continuam irrelevantes do ponto de vista epidemiológico e estão confinados a algumas espécies silvestres (Traversa & Di Cesare, 2013; Di Cesare et al, 2015). *Troglostrongylus brevior* tem desfrutado de uma maior atenção nos últimos anos, pela sua relevância clínica, especialmente em animais jovens e pela sua aparente expansão para a população de gatos domésticos (Brianti et al, 2012; Traversa & Di Cesare, 2013; Di Cesare et al, 2015).

Estes nemátodes cardiopulmonares são parasitas emergentes na Europa e têm recentemente recebido uma atenção crescente por parte dos investigadores da comunidade médico veterinária (Traversa et al, 2010; Traversa & Di Cesare, 2013; Brianti, Giannetto, Dantas-Torres et al, 2014). As causas para a gradual ocorrência destas parasitoses são ainda pouco claras e especulativas, mas alguns fatores poderão ser responsáveis como o aquecimento global, mudanças na epidemiologia do hospedeiro intermediário (HI) ou movimentação das populações animais (Root et al, 2003; Morgan, Jefferies, Krajewski, Ward & Shaw, 2009; Traversa et al, 2010).

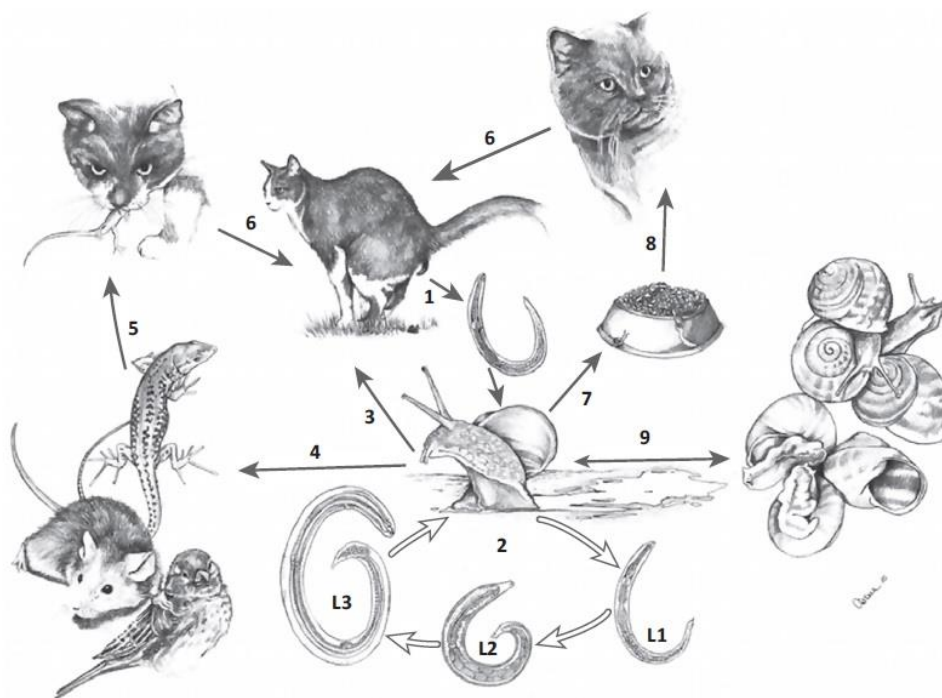
Neste capítulo será abordado o nemátode pulmonar mais frequente em gatos, *A. abstrusus*.

##### 1.1.1. Ciclo de vida

O ciclo de vida do *A. abstrusus* é indireto e requer um HI molusco (Hamilton & McCaw, 1967), que se infeta por ingestão ou penetração através da epiderme das L1 e desenvolvem-se até larva de estágio três ou 3º estágio (L3) infetante (Anderson, 2000). Na zona Mediterrânica, a infecção dos HI moluscos ocorre mais facilmente no Inverno/Primavera (Ramos, Giannelli, Dantas-Torres, Brianti & Otranto, 2013). A primeira muda para larva de segundo estágio (L2) parece ocorrer uma a duas semanas pós infecção e a muda para L3 ocorre após duas a três semanas (Hobmaier & Hobmaier, 1935). O desenvolvimento de larvas no HI é influenciado pela temperatura, havendo um maior desenvolvimento de larvas quando a temperatura ambiental é mais quente (Di Cesare et al, 2013). A fim de demonstrar a sua funcionalidade como HI, alguns géneros e espécies de gastrópodes foram infetados experimentalmente, como por exemplo *Helicella* sp., *Limax flavus* ou *Theba pisana* (Anderson, 2000; Bank, 2011).

O gato, hospedeiro definitivo, infeta-se após a ingestão de HI moluscos contendo L3 de *A. abstrusus* ou hospedeiros paraténicos (HP) como roedores, sapos, lagartos, cobras, pássaros (Mackerras, 1957; Hobmaier & Hobmaier, 1935). Recentemente, Giannelli et al (2015c) demonstraram a existência de vias alternativas de infecção através da contaminação ambiental do muco produzido pelos caracóis ou na água onde os caracóis morrem submergidos e sua ingestão com ervas ou água aquando da sua alimentação. A libertação das larvas ocorre de modo espontâneo, não havendo necessidade da existência de fatores perturbadores mecânicos ou escassez de alimento. É possível a transmissão de larvas L3 de *A. abstrusus* entre caracóis através de contato direto, sendo este modo de transmissão chamado *intermediesis* (Colella et al, 2015). Todos estes modos de infecção estão representados na Figura 3.

**Figura 3** - Ciclo de vida indireto de *Aelurostrongylus abstrusus* incluindo as vias alternativas de infecção (Giannelli, Cantacessi, Colella, Dantas-Torres & Otranto, 2015)



Legenda: Gatos infectados excretam L1 através das fezes (1) que podem ser ingeridas por hospedeiros intermediários ou penetram através do tegumento. No HI efetuam a muda de L1 para L3 (2). Gastrópodes infectados podem ser ingeridos por hospedeiros definitivos (3) ou por HP (4,5), completando deste modo o ciclo de vida (6). Alternativamente, os metastrongilídeos L3 podem ser libertados através dos trilhos mucosos dos gastrópodes (7), podendo contaminar a comida dos gatos (8) ou infectando outros HI (9). Desenho realizado por Viviana Domenia Tarallo.

Quando o hospedeiro definitivo ingere as larvas L3, estas penetram a mucosa do esófago, estômago e intestino e migram para os pulmões através da circulação sanguínea ou linfática (Urquhart, Armour, Duncan, Dunn & Jennings, 1996), sendo possível observar larvas no pulmão no final do primeiro dia pós infecção (Lautenslager, 1976). Os vermes adultos de *A. abstrusus* habitam os bronquíolos terminais, dutos alvéolares (Ribeiro & Lima, 2001; Bowman, 2014) e artérias pulmonares (Leitão & Meireles, 1983; Bourdeau, 1993). O período pré patente

(ppp) do *A. abstrusus* é de 1-2 meses (Hamilton, 1963; Bowman, 2002). Após a cópula, as fêmeas depositam ovos, dos quais nascem as L1. O período patente (pp) pode durar até 2 anos, podendo cessar a partir dos 48 dias (Schnyder et al, 2014). A excreção larvar é intermitente (Scott, 1972) e ocorre em animais com sinais clínicos (Foster, Martin, Braddock, & Malik, 2004; Traversa, Cesare, Milillo, Iorio & Otranto, 2008) ou assintomáticos (Grandi et al, 2005). O pico de excreção larvar ocorre entre 6-13 semanas pós infecção (Pennisi, Niuitta & Giannetto, 1995). Os vermes adultos sobrevivem nos pulmões por vários anos, podendo não produzir ovos (Bourdeau, 1993) e ciclos de eliminação e não-eliminação foram demonstrados em gatos infetados cronicamente (Ribeiro & Lima, 2001).

As L1 migram através da faringe, são deglutidas e expulsas do gato através das fezes para o meio ambiente (Anderson, 2000; Bowman, 2014). As L1 de *A. abstrusus* podem sobreviver nas fezes até 45 e 60 dias a temperatura ambiente (21-24°C) e 4°C, respetivamente (Gökpınar & Yildiz, 2010).

### **1.1.2. Epidemiologia**

A prevalência destas parasitoses está provavelmente subestimada, porque a técnica de Baermann é empregada com pouca frequência na prática clínica (Traversa & Guglielmini, 2008) colocando em questão se estas parasitoses são raras ou são raramente diagnosticadas (Madeira de Carvalho, Pereira da Fonseca, Gomes & Meireles, 2009).

Áreas endémicas estão relacionadas com fatores ecológicos e climáticos: vitalidade e capacidade das L1, presença de HI no ambiente e número de dias necessários de desenvolvimento para L3 (Traversa et al, 2008b, 2010). A prevalência encontrada varia com área geográfica, tipo de população estudada e método coprológico de diagnóstico (Barutzki & Schaper, 2013).

Existem alguns fatores de risco importantes na infecção por *A. abstrusus* como idade jovem e acesso ao exterior (Beugnet et al, 2014). Gatos com estes requisitos têm maior probabilidade de ficarem infetados devido ao seu instinto predador e maior acesso aos HI e HP (Headley, 2005; Traversa et al, 2008b).

Em Portugal, foram poucos os casos reportados (Sousa Dias, 1945; Peleteiro, Meireles & Bento, 1990). Em termos de estudos epidemiológicos, estes são igualmente escassos e a maioria são centralizados na zona da Grande Lisboa. Um estudo realizado na FMV-UL entre 1999-2000 revelou uma prevalência de 1,5%, (Madeira de Carvalho et al, 2009). Mais recentemente, em Lisboa foi observada uma prevalência de 12% (Waap et al, 2014; Nabais, 2012). Em relação à zona Norte do País, no Porto foi detetada uma prevalência de 17,4% numa população constituída por gatos de abrigo (Payo-Puente et al, 2008). Alguns dos mais recentes estudos epidemiológicos realizados na Europa estão resumidos na tabela 1.

**Tabela 1** - Estudos epidemiológicos que detetaram *A. abstrusus* em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo.

<b>País</b>	<b>Prevalência</b>	<b>População-alvo (n=amostras analisadas)</b>	<b>Exame efetuado</b>	<b>Referência</b>
<b>Albânia</b>	43,1%	Gatos errantes (n=18)	Necrópsia	(Knaus, Kusi, Rapti, Xhaxhiu & Winter, 2011)
<b>Alemanha</b>	15,3%	Gatos errantes (n=170)	Necrópsia	(Hiepe, Buchwald, & Schindler, 1988)
	5,6%	Gatos com sinais respiratórios (n=231)	Técnica de Baermann	(Taubert, Pantchev, Vrhovec, Bauer & Hermosilla, 2009)
	0,5%	Gatos domésticos (n=8560)	Flutuação com cloreto de sódio (NaCl)	(Barutzki & Schaper, 2011)
<b>Holanda</b>	2,6%	Gatos de abrigo (n=305)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Robben et al, 2004)
<b>Hungria</b>	14,5%	Gatos domésticos de zonas rurais (n=235)	Técnicas coprológicas <i>standard</i>	(Capári, Hamel, Visser, Winter & Pfister, 2013)
<b>Itália</b>	1,2%	Gatos domésticos (n=81)	Técnica de Baermann	(Riggio, Mannella, Ariti & Perrucci, 2013)
	2,9%	Gatos de abrigo (n=139)	Técnica de Baermann	(Spada et al, 2013)
	25,2% (Sardenha)	Gatos domésticos (n=107)	Técnica de Baermann	(Tamponi et al, 2014)
<b>Portugal</b>	17,4% (Porto)	Gatos de abrigo (n=97)	Técnica de Baermann-Wetzel	(Payo-Puente et al, 2008)
	12,4% (Lisboa)	Gatos errantes (n=162)	Necrópsia	(Waap et al, 2014)
<b>Roménia</b>	5,6%	Gatos domésticos (n=414)	Flutuação com NaCl	(Mircean, Titilincu & Vasile, 2010)

### 1.1.3. Fisiopatologia e sinais clínicos

As infecções podem ser assintomáticas, subclínicas ou clínicas, sendo que a manifestação de sinais clínicos está dependente de vários fatores como carga parasitária, idade do animal, resposta imunitária e presença ou não de afeções concomitantes (Traversa et al, 2010). Schnyder et al, (2014) num estudo com gatos infetados experimentalmente, concluiu que são precisas, no mínimo, 100 L3 para haver excreção larvar e demonstração de sinais clínicos.

A infecção pode ser auto limitante em animais adultos e/ou com baixa carga parasitária, havendo desaparecimento gradual dos sintomas (Lautenslauger, 1976). Infecções mais graves são caracterizadas por tosse, espirros, descargas nasais mucopurulentas, dispneia, hidrotórax e pode levar à morte (Hamilton, 1963; Ribeiro & Lima, 2001). Este último sinal é mais comum em gatos jovens e imunodeprimidos, apesar de casos mortais serem raramente reportados (Pechman, 1995). Os sinais clínicos são resultado da produção de ovos e migração larvar que despoletam uma resposta inflamatória intensa levando a broncopneumonia intersticial e lesões nos alvéolos, bronquíolos e artérias (Naylor, Hamilton & Weatherley, 1984; Gerdin et al, 2011). Podem também ocorrer outros sinais como letargia, depressão ou perda de peso (Grandi et al, 2005).

A tosse (<https://www.youtube.com/watch?v=lab6XgRRNQY>) é um dos sinais mais frequentes nesta parasitose (Barutzki & Schaper, 2013; Genchi et al, 2014), mas só aparece quando as L1 ascendem a traqueia, causando irritação mecânica. Isto acontece porque, no gato, os recetores da tosse localizam-se maioritariamente nas vias aéreas superiores, laringe, traqueia e zona da bifurcação traqueal não estando associado a processos no parênquima pulmonar, local onde o verme adulto habita (Corcoraan, 2000).

Visto que os sinais clínicos são essencialmente do foro respiratório, o médico veterinário deve considerar diversas afeções nos diagnósticos diferenciais: infecção viral, bacteriana ou fúngica, doença inflamatória não infecciosa (como pólipos nasofaríngeos e bronquite alérgica), corpo estranho e neoplasia do sistema respiratório (Traversa & Guglielmini, 2008).

Em termos hematológicos poderá estar presente anemia moderada, devido à resposta inflamatória crónica (Yildiz, Duru & Gokpinar, 2011; Schnyder et al, 2014). A eosinofilia é uma alteração regularmente presente (Grandi et al, 2005; Yildiz et al, 2011) cujo grau é independente do grau de carga parasitária. Isto pode ser explicado pela presença constante do parasita, havendo estimulação antigénica, a quem os linfócitos reagem com uma resposta imune do tipo IgE, levando a um aumento dos linfócitos (Schnyder et al, 2014). Análises a gases sanguíneos podem revelar acidose respiratória e hipoventilação, provavelmente devido à diminuição da superfície disponível para troca gasosa devido à infiltração de ovos, larvas L1 e macrófagos. Os valores aproximam-se dos fisiológicos dois meses após tratamento (Yildiz et al, 2011). Como a infecção por *A. abstrusus* não apresenta alterações laboratoriais hematológicas e bioquímicas específicas, o diagnóstico definitivo não deve assentar nestes parâmetros (Traversa & Guglielmini, 2008; Foster et al, 2004).



Infeções por *A. abstrusus* podem resultar em pneumonias granulomatosas, de gravidade variável (Traversa & Guglielmini 2008). As alterações macroscópicas são caracterizadas por nódulos multifocais amarelos, firmes e ligeiramente salientes, distribuídos pelo parênquima pulmonar. Ao corte, a superfície pulmonar pode revelar quantidades variáveis de exsudado cremoso (Dungworth, 1993). A visualização do verme adulto de *A. abstrusus* é difícil devido à sua forma capilar e pequenas dimensões (Ferreira da Silva, Pereira da Fonseca, Madeira de Carvalho, Meireles & Fazendeiro, 2005; Schnyder et al, 2014). As alterações histológicas variam conforme o grau e momento da infecção, sendo precisas pelo menos 50 L3 para existir lesões pulmonares (Schnyder et al, 2014). As infecções ativas são caracterizadas por uma broncopneumonia moderada com infiltrado eosinofílico e outras células inflamatórias, enquanto o efeito residual da passagem do parasita se caracteriza por hiperplasia, hipertrofia das artérias pulmonares (Lautenslaugther, 1976; Dungworth, 1993). Podem ser observados ovos de *A. abstrusus* no lúmen de veias pulmonares (Ferreira da Silva et al. 2005). A inflamação pulmonar induzida por *A. abstrusus* é progressiva e irreversível (Dungworth, 1993), afetando várias partes do pulmão simultaneamente, porque a forma parasitária não está restringida a uma região pulmonar definitiva (Headley, 2005).

#### **1.1.4. Diagnóstico e identificação**

Não é fácil fazer o diagnóstico clínico, uma vez que diversas afeções devem ser consideradas nos diagnósticos diferenciais e podem ocorrer infecções subclínicas ou atípicas (Traversa et al, 2010). Como foi referido no capítulo anterior, os achados laboratoriais são inespecíficos, o que não permite um diagnóstico definitivo, sendo necessário a deteção direta do agente em amostras biológicas com recurso a técnicas coprológicas (Traversa & Guglielmini, 2008).

Várias técnicas coprológicas podem ser utilizadas, como esfregaço fecal direto, flutuação ou Baermann (Traversa et al, 2010). Também podem ser recuperadas larvas de efusões pleurais, material expetorado, fluído transtraqueal ou lavagem broncoalveolar (LBA) (Barrs Swinney, Martin & Nicoll, 1999).

A técnica de Baermann é considerada o *gold standard* para identificação de L1 nas fezes ou tecido pulmonar (Coman, Jones & Driesen, 1981) uma vez que estas exibem hidro e termotropismo positivos (Laciorcia, Gasser, Anderson & Beveridge 2009). Esta técnica requer equipamento que segure a amostra fecal ou pulmonar num copo cónico com água morna de modo a que as larvas migrem para o fundo do copo e possam ser recolhidas (Zajac & Conboy, 2012), sendo possível providenciar informação quantitativa sobre larvas por grama (LPG), correlacionando com a gravidade da infecção (Genchi et al, 2014). Segundo alguns autores, a técnica de Baermann é mais sensível que necrópsia ou exame histopatológico, no entanto detém uma sensibilidade inferior a 90% (Willard, Roberts, Allison, Grieve & Escher, 1988; Lacorcia et al, 2009). As desvantagens deste método são as necessárias 24 horas para obter

resultados e a existência de falsos negativos devido ao ppp ou excreção larvar intermitente (Traversa et al, 2010).

Outro método coprológico que é possível usar no diagnóstico de aelurostrongilose é o esfregaço fecal a fresco. Não tem custos associados e é de fácil execução, mas tem pouca sensibilidade (61%, se comparada com a do método de Baermann) devido ao tamanho pequeno de amostra utilizado, sendo apenas detetados animais que excretam um grande número de larvas nas fezes (Traversa & Guglielmini, 2008). A técnica de flutuação fecal também tem pouca sensibilidade devido ao pequeno tamanho da amostra analisada e as soluções usadas podem induzir danos sobre as larvas. As soluções açucaradas provocam danos osmóticos nas larvas por desidratação, devido à sua gravidade específica elevada, danificando detalhes morfológicos necessários para a identificação microscópica (Scott 1972). Os ovos de nemátodes pulmonares não são habitualmente detetados nestes métodos coprológicos (esfregaço fecal e flutuação) porque o ciclo de vida de *A. abstrusus* é maioritariamente respiratório, a fragilidade dos ovos e o tempo decorrente entre a sua ovopostura e eclosão larvar é curto (Alho, Nabais & Madeira de Carvalho, 2013).

Uma nova técnica coprológica, FLOTAC, foi avaliada na deteção de L1 de *A. abstrusus* em amostras fecais. Este método baseia-se na contagem de formas parasitárias (ovos ou larvas) em câmaras, após flutuação numa centrífuga e translação da porção apical da suspensão. Quando comparada com as técnicas de McMaster e de Baermann, FLOTAC recuperou uma LPG significativamente superior ( $p < 0,05$ ). Esta técnica representa uma alternativa quando a viabilidade das larvas está comprometida após transporte ou armazenamento prolongados, e não se possam utilizar técnicas de migração de larvas (Schnyder et al, 2011).

Em alternativa às técnicas coprológicas, a Lavagem Bronco-Alveolar (LBA) pode também ser utilizada no diagnóstico de aelurostrongilose (Foster et al, 2004). No entanto, devido à necessidade de sedação, o procedimento é invasivo, com potenciais riscos e pode falhar na demonstração da presença de larvas se forem obtidos pequenos volumes de lavado broncoalveolar (Foster et al, 2004) e na ausência de envolvimento significativo de tecido pulmonar (Chapman, Boag, Guitian & Boswood, 2004). O diagnóstico de aelurostrongilose já foi descrito por punção aspirativa por agulha fina pulmonar (Dürr, 2002).

Após a recuperação de larvas L1, a identificação destas deve reger-se por parâmetros métricos e morfológicos: medem entre 300 e 390  $\mu\text{m}$ , possuem uma extremidade anterior cónica e conteúdo granular, esófago não rabditiforme que ocupa um terço a metade do comprimento da larva, a extremidade posterior em forma de “S” com um entalhe dorsal e uma terminação tipo botão (Scott, 1972). Os vermes adultos de *A. abstrusus* localizam-se no parênquima pulmonar, as fêmeas medem 10-10,4 milímetros (mm) com abertura vulvar perto do ânus, enquanto os machos medem 5-6 mm (Gerichter, 1949).

A nível serológico, o único estudo efetuado para a aelurostrongilose felina foi efetuado por Hamilton & Roberts, (1968). Estes autores avaliaram um teste de imunofluorescência indireta

para detecção de aelurostrongilose, utilizando antígenos de L3. Apesar de detectar anticorpos a partir da terceira semana pós-infecção, a longa presença dos anticorpos em circulação impossibilita diferenciação entre infecção antiga, recente e ativa.

A técnica de Baermann detecta 90% das infecções e os restantes 10% são detectados por exame histopatológico de tecido pulmonar (Willard et al, 1988; Lacorcia et al, 2009). Este último método de diagnóstico tem a vantagem de detectar infecções antes do início da excreção larvar. Porém, a maioria dos estudos efetuados é efetuado com tecido pulmonar proveniente de cadáveres, sendo obtidas porções médias dos lobos pulmonares que não são equivalentes às porções obtidas por uma biópsia em indivíduos vivos. A biópsia pulmonar é um procedimento invasivo e pouco rotineiro para avaliação de doenças do trato respiratório (Norris, Griffey, Samii, Christopher & Mellema, 2002).

Métodos de diagnóstico molecular têm sido desenvolvidos na tentativa de se ultrapassar as limitações dos métodos de diagnóstico clássico usado em parasitologia. O método de *Polymerase Chain Reaction* (PCR) permite a identificação específica de uma gama de infecções por nemátodes (Traversa & Guglielmini, 2008). Foi desenvolvido um *nested* PCR para pesquisa de *A. abstrusus*, baseado no uso de marcadores genéticos do ácido desoxirribonucleico (ADN) ribossomal, mostrando uma especificidade de 100% e sensibilidade de 96,6% (Traversa, Iorio & Otranto, 2008c). Várias amostras biológicas (fezes, sobrenadante da flutuação, sedimento de Baermann e esfregaços traqueais) foram estudadas para este PCR, sendo que os esfregaços faríngeos contornam alguns problemas associados às amostras fecais como o ppp e de migração, que pode levar a quantidades insuficientes de ADN para amplificação por PCR (Traversa et al, 2008c). Para além disso, a extração de ADN de amostras fecais é mais trabalhosa devido à presença de inibidores de PCR (Foster et al, 2004; Traversa et al, 2008c).

A nível imagiológico, não são encontradas lesões patognomónicas, mas a radiografia torácica pode revelar a cronicidade da doença (Traversa & Guglielmini, 2008). Os primeiros achados radiográficos que são observados incluem espessamento brônquico e pequenos nódulos mal definidos, localizados predominantemente nos lobos pulmonares caudais (Traversa & Guglielmini, 2008). O padrão pulmonar brônquico e alveolar focal são os mais comumente observados em animais com sinais clínicos (Traversa & Guglielmini, 2008), enquanto padrão intersticial é mais frequente na fase resolutiva da doença (Losonsky, Thrall & Prestwood, 1983). Pode ser observado aumento do diâmetro da artéria pulmonar e efusão pleural (Hamilton, 1963).

Dirven, Szatmári, van den Ingh & Nijse (2012) reportaram cardiomegalia do lado direito com hipertrofia excêntrica secundária a hipertensão pulmonar em dois gatos com 10 semanas de idade devido a infecção com *A. abstrusus*. Ambos os gatos apresentavam sopro cardíaco com máxima intensidade no hemitórax direito devido a regurgitação da válvula tricúspide e

pulmonar. Um dos animais morreu, mas no que sobreviveu foi confirmada a resolução da hipertensão pulmonar através de ecocardiografia com recurso ao Doppler.

A Tomografia Axial Computorizada (TAC) permite obter imagens com melhor resolução, maior definição das lesões medulares e paredes brônquicas, mas é difícil a distinção entre processos pulmonares inflamatórios ou infecciosos (Payo-Puente et al, 2005).

#### **1.1.5. Tratamento e prevenção**

Roberson & Burke (1980) reportaram a eficácia parcial do febendazol contra vermes adultos e efeitos transitórios na excreção larvar, se administrado por 3 dias consecutivos 50 mg/kg. Quando administrado por períodos de tempo mais longos, providencia um tratamento mais satisfatório (Grandi et al, 2005).

As latonas macrocíclicas (ivermetina e selametina) não são consideradas completamente satisfatórias devido à eficácia parcial (Grandi et al, 2005) e os possíveis efeitos secundários *life-threatening* em animais jovens (Lewis, Merchant & Neer, 1994). No entanto, injeções de ivermectina têm sido usadas *extralabel* em gatos, na dose de 0.4mg/kg sub cutânea (SC) (Reinemeyer, 2000). Os poucos relatos existentes do uso da selametina para tratamento de parasitas pulmonares têm pouca casuística. Na Alemanha, dois tratamentos de selamectina tópica (6mg/kg) espaçados de um mês foram eficazes na resolução da infeção de um gato naturalmente infetado (Reinhardt, Ottenjann, Schunack & Kohn, 2004), mas o mesmo tratamento falhou no tratamento em 2 de 3 gatos em Itália (Grandi et al, 2005). Recentemente, um spot-on selamectina 45 mg (Stronghold ®) demonstrou ter sido eficaz num estudo de 9 em 10 gatos (Iannino, Iannetti, Paganico & Vulpiani, 2013).

A combinação de milbemicina oxima (4mg) e praziquantel (10mg) (Milbemax ®) foi administrada 3 vezes, com 15 dias de intervalo, a um gato com 10 semanas de idade infetado com *A. abstrusus*, que resultou na paragem de excreção larvar, resolução dos sinais clínicos, radiográficos e ecocardiográficos de broncopneumonia e hipertensão pulmonar (Dirven et al, 2012).

A eficácia e segurança de dois antiparasitários spot-on foram avaliadas por Traversa et al (2009a, b). Num primeiro estudo, Traversa et al, (2009a) comparou a eficácia de emodepside 3 mg/kg (numa formulação de 2,1% emodepside + 8,6% praziquantel - Profender ®) e febendazol 50mg (Panacur ®) *per os* (PO) durante 3 dias. Os resultados de eficácia foram 99,4% e 99,3%, respetivamente. Num segundo estudo (Traversa et al, 2009b), gatos naturalmente infetados foram tratados com moxidectina (1mg/kg) numa formulação com 1% moxidectina + 10% imidaclopride (Advocate ®) ou com febendazol 50mg/kg (Panacur ®) durante 3 dias. A percentagem de eficácia, baseada em contagens larvares pós tratamento, determinou uma percentagem de eficácia de 100% e 99,3%, respetivamente.

O uso de algumas moléculas para profilaxia é atualmente desconhecido, mas a combinação de fipronil 8,3%, (S)-methopreno 10%, eprinomectina 0,4% e praziquantel 8,3% em spot-on

(Broadline®) mostrou ter uma eficácia de 90,5%, baseada em contagens larvares para *A. abstrusus* (Giannelli et al, 2015a).

Geralmente, no final do tratamento ou da resolução dos sinais clínicos é aconselhado fazer um teste de Baermann, de três dias consecutivos, de modo a certificar que não ocorre de excreção de L1 (Chapman et al, 2004).

As infecções bacterianas secundárias podem contribuir para a gravidade da aelurostrongilose, sendo que antibióticos de largo espectro devem ser administrados juntamente com corticosteróides em doses anti inflamatórias em casos de existência de sinais de broncopneumonia. Efusão pleural e pneumotórax requerem resolução imediata através de toracocentese e oxigenoterapia, sendo necessária para todos os gatos com insuficiência respiratória (Pennisi et al, 2015).

A gravidade das infecções por *A. abstrusus* está relacionada com nível de carga parasitária, mas o prognóstico deve ser baseado principalmente no exame físico (grau de dispneia e ocorrência de cianose) e achados radiográficos (Pennisi et al, 2015).

Em termos de prevenção, gatos errantes e com acesso ao exterior têm um maior risco de ficarem infetados com *Aelurostrongylus abstrusus* em áreas endêmicas (Iorio & Traversa, 2008). Evitar a ingestão de HI e HP também contribui para diminuir o risco de infecção, contudo não é algo de fácil concretização. A recente descoberta que pode haver contaminação ambiental através do muco dos gastrópodes, dificulta ainda mais a profilaxia, sendo aconselhado que os donos tenham atenção a gatos com acesso a exterior e lavar as taças de água e comidas, se deixadas ao ar livre (Giannelli et al, 2015c).

## **2. Parasitas Gastrointestinais em felinos**

### **2.1. Nemátodes Gastrointestinais**

Os ascarídeos e ancilostomatídeos pertencem aos grupos de helmintes mais importantes em termos de difusão e risco para a saúde animal e humana. No entanto, tem-se assistido a uma diminuição da importância atribuída a estas parasitoses pelo público, em geral e proprietários de animais de estimação, em particular (Traversa, 2012). Neste capítulo serão abordados com especial destaque *Toxocara cati* e *Ancylostoma* spp., que são responsáveis pela síndrome de Larva Migrante Ocular e Cutânea em humanos, respetivamente (Robertson & Thompson, 2002; Deplazes, van Knapen, Schweiger & Overgaauw, 2011). Outra espécie de ascarídeo, *Toxascaris leonina*, afeta cães e gatos e, até à data, parece não possuir potencial zoonótico (Traversa, 2012).

#### **2.1.1. *Toxocara cati***

##### **2.1.1.1. Ciclo de vida**

Os parasitas adultos habitam o intestino delgado do gato, hospedeiro definitivo, produzindo cerca de 200.000 ovos por dia/fêmea, sendo estes expulsos com as fezes para o meio ambiente. Os ovos tornam-se infetantes em 3-6 semanas, quando as condições ideais de temperatura, humidade e tensão de oxigénio estão reunidas, passando para L1, depois L2 e por fim L3 (Araújo, 1972; Zajaz & Conboy, 2012). Os ovos podem sobreviver pelo menos 1 ano no meio ambiente em condições climáticas ótimas (Deplazes et al, 2001).

A infeção, nos gatos, pode ocorrer por três vias: infeção direta, consumo de HP e infeção transmamária (Bowman, 2014).

No caso de infeção direta, quando um gato ingere ovos de *T. cati*, as L3 eclodem no estômago e duodeno, migram através da parede intestinal, sistema porta, fígado, veia cava caudal, coração e artéria pulmonar, chegando então aos capilares pulmonares. Conforme a idade, o estado imunológico do animal e a carga parasitária, as larvas podem penetrar os alvéolos pulmonares ou permanecer em circulação (Araújo, 1972). Se houver penetração nos alvéolos pulmonares, há uma migração traqueal, sendo deglutida, voltando ao intestino, onde se desenvolve para larva de estágio quatro (L4) e larva de estágio cinco (L5) (Araújo, 1972; Strube et al, 2013). O pp é de 8 semanas (Sprent, 1956).

Se permanecer em circulação, a larva migra para diversos órgãos e tecidos onde enquista como L3. Esta migração ocorre nos HP e caso a larva seja consumida por um hospedeiro definitivo, a larva é novamente ativada (Strube et al, 2013). Devido ao forte instinto predatório apresentado pelos felinos, esta última via de infeção é de extrema importância na perpetuação desta parasitose (Bowman, 2014). O gato não desenvolve imunidade quando adquirida por via predação, sendo assim pode experienciar infeções patente durante toda a vida (Schaper, Altreuther & Hopkins, 2007).

Relativamente à infecção transmamária, foi demonstrado que este tipo de transmissão raramente ocorre quando está decorrente uma infecção natural crónica, mas pode ocorrer se houver uma infecção aguda na última fase da gestação (Coati, Schnieder & Epe, 2004). Caso ocorra uma infecção via transmamária, o parasita não necessita de efetuar a migração normal, realizando toda a sua evolução diretamente no intestino (Urquhart et al, 1996).

O ppp é cerca de 6 semanas para todos os tipos de infeções (ESCCAP, 2010), apesar que alguns autores indicam um período de 2 meses para infeções por HP (Bowman, 2014).

Existem algumas diferenças em relação ao ciclo de vida de *T.canis* que, por motivos inerentes à temática, não será aqui abordado. A ocorrência de migração traqueal permanece elevada ao longo da vida do felino, mesmo se previamente infetados, e não existe infecção transplacentária (Bowman, 2014).

#### **2.1.1.2. Epidemiologia**

*Toxocara cati* é o nemátode ascarídeo mais comum em gatos (Bowman, 2014). *Toxascaris leonina* possui uma prevalência muito menor, raramente excedendo 1% (Barutzki & Schaper, 2011).

Em Portugal, o Serviço de Patologia de Doenças Parasitárias da FMV-UL reportou um decréscimo de *T. cati* de 7,8% para 3,3% no período de 1994 e 2004 (Madeira de Carvalho, et al. 2005). Após este ano, vários estudos foram efetuados na zona da Grande Lisboa, mostrando prevalências entre 10,8% e 38,3% (Vaz et al. 2005; Duarte et al. 2010; Waap et al, 2014) e em Évora 10% (Ferreira et al, 2011).

Num estudo recentemente efetuado por Beugnet et al, (2014) com 1519 gatos de vários países europeus, *T. cati* foi o endoparasita mais diagnosticado (19,7%), onde observaram que gatos com mais de 24 meses e com acesso infrequente ao exterior estavam em menor risco de contrair infecção. Na tabela 2, estão resumidos outros estudos efetuados em vários países Europeus nos últimos anos.

**Tabela 2** - Estudos epidemiológicos que detetaram *T. cati* em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo.

<b>País</b>	<b>Prevalência</b>	<b>População-alvo (n=amostras analisadas)</b>	<b>Exame efetuado</b>	<b>Referência</b>
<b>Albânia</b>	83,3%	Gatos errantes (n=18)	Necrópsia	(Knaus et al, 2011)
<b>Alemanha</b>	4,7%	Gatos domésticos (n=8560)	Flutuação com sulfato de zinco	(Barutzki & Schaper, 2011)
	27,1%	Gatos errantes (n=837)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Becker, Rohen, Epe & Schnieder, 2012)
<b>Espanha</b>	35%	Gatos errantes (n=58)	Necrópsia	(Millán & Casanova 2009)
<b>Finlândia</b>	5,4%	Gatos domésticos (n=411)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Näreaho et al, 2012)
<b>Grécia</b>	18,14%	Gatos errantes (n=215)	Flutuação com NaCl	(Lefkaditis et al, 2014)
<b>Hungria</b>	17,4%	Gatos domésticos de zonas rurais (n=235)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Capári et al, 2013)
<b>Itália</b>	22,2%	Gatos domésticos (n=81)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Riggio, Mannella, Ariti & Perrucci, 2013)
	2,9%	Gatos de abrigo (n=139)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Spada et al, 2013)
<b>Portugal</b>	10% (Évora)	Gatos domésticos e abrigo (n=22))	Técnica de flutuação - sedimentação	(Ferreira et al, 2011)
	38,3% (Lisboa)	Gatos errantes (n=162)	Necrópsia	(Waap et al, 2014)
<b>Roménia</b>	20,3%	Gatos domésticos (n=414)	Flutuação com NaCl	(Mircean, Titilincu & Vasile, 2010)



### **2.1.1.3. Fisiopatologia e sinais clínicos**

Os sinais clínicos demonstrados pelo animal varia consoante a idade, carga parasitária e estágio de desenvolvimento dos vermes. Os sinais de toxocarose que os gatos jovens normalmente manifestam são diarreia, vômito, desidratação, anemia e anorexia, após infecções massivas (Hendrix, 1995). *T. cati* pode causar lesões pulmonares identificadas por TAC 11 dias pós infecção (Dillon et al, 2013). Comparativamente com cachorros, os gatos tendem a demonstrar sinais mais tardiamente, uma vez que não ocorre infecção *in utero* (Weese, 2011).

Em gatos adultos, pode haver vômito, distensão abdominal, anorexia e perfuração gástrica com presença de parasitas adultos na cavidade abdominal (Aoki, Yamagami, Saeki & Washizu, 1990).

### **2.1.1.4. Identificação e diagnóstico**

O diagnóstico de infecção por *Toxocara* spp. é realizado através da visualização de vermes adultos nas fezes ou vômito ou através da análise coprológica e identificação de ovos num exame coprológico de flutuação (Zajac & Conboy 2012).

Relativamente aos vermes adultos, os machos medem 3-7 cm e as fêmeas 4-10 cm (Warren, 1971), cor creme e no caso de serem parasitas frescos, os seus órgãos reprodutivos internos possuem cor branca. Possuem uma asa cervical que dá a aparência de seta, sendo menos comprida e mais larga, quando comparada com a de *T. canis* (Bowman et al. 2014).

Relativamente às características morfológicas dos ovos do género *Toxocara* spp., a presença de uma casca externa confere grande resistência a ambientes extremos, agentes físicos e químicos, permitindo capacidade infetante durante meses a anos. Os ovos possuem um tamanho de 62,3×72,7 µm (61,8 - 73,3 µm) (Fahrion, Schnyder, Wichert & Deplazes, 2011). Segundo alguns autores, os ovos de *T. cati* têm uma forma elíptica, diferenciando-se dos de *T. canis*, que possuem uma forma sub esférica (Araújo, 1972). Devido à dificuldade na diferenciação dos ovos de *T. canis* e *T. cati*, podem utilizar-se técnicas de biologia molecular como PCR para identificação da espécie (Uga et al, 2000).

### **2.1.1.5. Tratamento e prevenção**

O facto de os gatos não adquirirem por rotina infecções via transuterina, o tratamento de animais muito jovens não é tão urgente como o de cachorros (Bowman, 2014). No entanto, acompanhado da possibilidade de ingestão de ovos do ambiente, é prudente que o tratamento se inicie às 3 semanas de idade. Este deve ser repetido quinzenalmente até às duas semanas pós-desmame, e depois mensalmente até aos 6 meses de idade. As gatas devem ser tratadas antes da gestação porque infecções latentes podem ativar-se na altura do parto, e novamente aquando da primeira ingestão de leite da sua ninhada, minimizando-se os riscos de grandes infecções nos recém-nascidos (ESCCAP 2010). A frequência de tratamento sugerida para

animais adultos é de 4 vezes por ano. No caso de elevado risco de infecção para humanos, como agregados familiares com crianças, esta frequência deve ser mensal, prevenindo assim infecções patentes, considerando as 4 semanas de ppp. Em alternativa, pode efetuar-se uma terapêutica baseada em exames coprológicos periódicos mensais ou trimestrais (ESCCAP 2010).

Os únicos fármacos seguros no combate ao *Toxocara* spp. às duas semanas de idade são os derivados de pirantel e o febantel. A partir das 6 semanas de idade podem passar a ser tratados com ivermectina e milbemicina oxima. A partir das 8 semanas, podem ser tratados topicamente com selamectina, e após as 9 semanas podem ser tratados com emodepside e moxidectina (Bowman, 2014).

No que respeita à profilaxia, em conjunto com as desparasitações regulares, os proprietários devem ter boas práticas de segurança e higiene. Devem apanhar as fezes dos seus animais e descartá-las, juntamente com o areão dos gatos, de forma segura nos contentores apropriados. Para minimizar a infecção ambiental não devem usar as fezes dos animais de estimação para compostagem ou fertilização de vegetais em jardins e hortas (ESCCAP, 2010).

#### **2.1.1.6. Risco zoonótico**

Até à data, não é claro se *T. cati* representa o mesmo risco zoonótico que *T. canis*, pois acredita-se que a maioria das infecções humanas seja causada por *T. canis*. No entanto, os gatos excretam ovos, e os humanos são possíveis HP. Além disso, o facto de os humanos se infetarem por *Toxoplasma gondii* através da ingestão de oocistos provenientes das fezes de gatos, sugere que também possam ficar infetados com ovos de *T. cati* pela mesma via (Bowman, 2014). Os humanos, principalmente nas faixas etárias mais jovens, infetam-se após ingestão de ovos embrionados presentes em solos contaminados por fezes de animais parasitados (Deplazes et al, 2011; Dhaliwal & Juyal, 2013). Hábitos de higiene inadequados, maior contato com caixas de areia e hábitos de geofagia potenciam a infecção (Robertson & Thompson, 2002). Após a ingestão, as larvas migram pelos tecidos onde ficam aprisionadas devido à resposta inflamatória do hospedeiro, formando granulomas. A gravidade da doença depende do número de larvas e tecidos abrangidos (Ballweber, 2001). O síndrome da Larva migrante ocular resulta da formação de granulomas na retina, podendo não haver sinais em outros sistemas (Robertson & Thompson, 2002). Existem quatro casos reportados de crianças infetadas com *T. cati* devido à ingestão de formas adultas, recolhidas de caixas de areia (Eberhard & Alfano, 1998). Os humanos também podem infetar-se através de ovos de *Toxocara* spp. no pelo dos animais. No entanto, várias gramas de pelo têm que ser ingeridas para causar infecção e, no caso concreto dos felinos, o número de ovos em relação aos cães no pelo é inferior, provavelmente devido aos hábitos de *self-grooming* (Overgaauw et al, 2009).

### 2.1.2. Família Ancylostomatidae

O gato é hospedeiro de várias espécies da família Ancylostomatidae, sendo *Ancylostoma tubaeforme* uma das espécies mais comuns no gato. No entanto, existem outras espécies como *A. brasiliense*, presente essencialmente em regiões tropicais e sub-tropicais, *A. ceylanicum*, presente no continente asiático e *U. stenocephala*. Este último é menos comum, sendo encontrado em zonas com climas mais frios, incluindo Canadá, o norte dos Estados Unidos e a Europa (Weese, 2011).

#### 2.1.2.1. Ciclo de vida

Os nemátodes da família Ancylostomatidae habitam no intestino delgado do hospedeiro definitivo, maioritariamente na porção do jejuno proximal (Bowman et al, 2002) e são caracterizados pela sua hematofagia (Baños, Baños & Morondo-Pelayo, 1999). Os animais infetados eliminam ovos através das fezes, que se desenvolvem no solo até à forma infetante, a larva L3, em 2-8 dias (Ballweber, 2001). A temperatura ótima de desenvolvimento larvar para *A. tubaeforme* é 20°C, sendo este valor mais baixo em relação a *Ancylostoma caninum* (Okoshi & Murata, 1967).

O gato, hospedeiro definitivo, infeta-se quando ingere larvas L3 (*Ancylostoma* spp., *Uncinaria* spp.) e/ou quando estas penetram ativamente na pele (*Ancylostoma* spp.) (Bowman, 2014). Após a infeção por via oral, as L3 penetram a mucosa do intestino delgado, desenvolvem-se até ao estado adulto durante 10-12 dias, voltando no final desse período para o lúmen. O ppp após ingestão é de 18-28 dias (Bowman et al, 2002).

A infeção por via cutânea ocorre devido à secreção de enzimas proteolíticas, apesar de Mathews (1975) falhar ao tentar demonstrá-la experimentalmente. As L3 atingem os pulmões através da circulação sanguínea, onde passam a L4, migram pela traqueia e são deglutidas. No intestino delgado ocorre a muda para L5 e finalmente evolui para o estado adulto (Urquhart et al. 1996). O ppp é cerca de 19-25 dias (Bowman et al, 2002) e as formas adultas podem sobreviver entre 18 meses a 2 anos (Okoshi & Murata, 1967).

O seu ciclo biológico é direto, mas há a possibilidade de ocorrer ciclos indiretos na presença de HP (Ballweber, 2001). Os roedores são possíveis HP e foi verificado experimentalmente que as L3 se mantêm vivas por 10 meses no seu organismo (Norris, 1971).

Nas espécies *A. tubaeforme* e *A. braziliense* não há evidência da transmissão por via mamária, apesar de esta questão nunca ter sido cuidadosamente estudada. Não há estudos sobre o número de ovos produzidos por fêmea diariamente ou sobre o efeito da idade do animal sobre o tempo de maturação na parede intestinal (Bowman et al, 2002).

### 2.1.2.2. Epidemiologia

Em Portugal, dos estudos realizados, em Lisboa, Waap et al, (2014) reportaram uma prevalência de 19,1% para *Ancylostoma tubaeforme* e Duarte et al, (2010) demonstraram 1,4% para *Ancylostoma tubaeforme* e 2,7% para *Uncinaria stenocephala*. Em Évora, Ferreira et al, (2011) reportaram um valor de 6,1% para *Ancylostoma* spp.

Num estudo recentemente efetuado com 1519 gatos por vários países europeus, os ovos de ancilostomatídeos foram encontrados em 1,4% das amostras fecais analisadas (Beugnet et al, 2014). Relativamente aos países Europeus, vários estudos estão compilados na tabela 3.

**Tabela 3** – Estudos epidemiológicos que detetaram Ancilostomatídeos em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo.

<b>País</b>	<b>Prevalência</b>	<b>População-alvo (n=amostras analisadas)</b>	<b>Exame efetuado</b>	<b>Referência</b>
<b>Albânia</b>	44,4%	Gatos errantes (n=18)	Necrópsia	(Knaus et al, 2011)
<b>Alemanha</b>	0,2%	Gatos domésticos (n=8560)	Flutuação com sulfato de zinco	(Barutzki & Schaper, 2011)
	1,1%	Gatos errantes (n=837)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Becker et al, 2012)
<b>Espanha</b>	91%	Gatos errantes (n=58)	Necrópsia	(Millán & Casanova 2009)
<b>Grécia</b>	11,63%	Gatos errantes (n=215)	Flutuação com NaCl	(Lefkaditis et al, 2014)
<b>Hungria</b>	11,1%	Gatos domésticos de zonas rurais (n=235)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Capári et al, 2013)
<b>Itália</b>	1,2%	Gatos domésticos (n=81)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Riggio et al, 2013)
	7,2%	Gatos de abrigo (n=139)	Flutuação com solução açucarada	(Spada et al, 2013)
<b>Portugal</b>	19,1%	Gatos errantes (n=162)	Necrópsia	(Waap et al, 2014)
<b>Roménia</b>	10,1%	Gatos domésticos (n=414)	Flutuação com NaCl	(Mircean, Titilincu & Vasile, 2010)

### 2.1.2.3. Fisiopatologia e sinais clínicos

O verme adulto vive ancorado à mucosa intestinal e segrega enzimas, inibidores de plaquetas e anticoagulantes, que levam a danos na mucosa intestinal (Weese, 2011) resultando numa grande capacidade hematófaga (Baños et al, 1999). Sendo assim, os sinais clínicos de ancilostomose podem variar entre diarreia hemorrágica e anemia grave, devido a perda de sangue pela mucosa intestinal causada pelos vermes adultos (Bowman et al, 2002). Morte súbita pode ocorrer em gatos neo natos (Weese, 2011). No caso de infecções por *U. stenocephala*, que tem pouca ou nenhuma atividade hematófaga, os sinais clínicos em infecções massivas poderão ser caracterizados por anemia moderada, hipoalbuminemia, anorexia, diarreia e letargia (Bowman et al, 2002).

### 2.1.2.4. Identificação e diagnóstico

Os parasitas adultos de Ancylostomatidae são facilmente identificados pelo tamanho (1-2cm) e pela postura característica em gancho. Para distinguir espécies adultas, a identificação deve basear-se na forma da cápsula bucal. As espécies de *Ancylostoma* possuem dentes marginais enquanto a espécie *Uncinaria* possui placas cortantes e um pequeno par de dentes na base (Urquhart et al, 1996). *A. tubaeforme* possui três pares de dentes marginais e *A. braziliense* possui dois pares de dentes marginais (Bowman 2014). Os ovos de ancilostomatídeos são facilmente identificados através de métodos de flutuação fecal. Para fazer a diferenciação entre *Ancylostoma* spp. e *Uncinaria stenocephala* é necessário medir (Bowman et al, 2002), mas podem ser distinguidos em infecções mistas (Ehrenford, 1953). Os ovos de *Ancylostoma tubaeforme* medem 55-76 x 34-45 µm e *Uncinaria stenocephala* 70-90 x 40-50 µm (Bowman et al, 2002).

### 2.1.2.5. Tratamento e prevenção

Os gatos podem ser tratados com produtos contendo ivermetina, selamectina, moxidectina, milbemicina oxima, pamoato de pirantel, emodepside ou febantel (Bowman 2014). Ivermetina mastigável para gatos está disponível, com uma eficácia de 90.7% para *Ancylostoma tubaeforme* em gatos (Nolan, Niamatali, Bhopale, Longhofer, & Schad, 1992).

### 2.1.2.6. Risco zoonótico

A síndrome da Larva Migrante Cutânea é causada por vários ancilostomatídeos, entre eles: *A. braziliense*, *A. caninum* e *U. stenocephala* (Dhaliwal & Juyal, 2013). É sabido que *A. tubaeforme* não penetra a pele humana ou tem pouco poder de penetração (De Cameri, Castelino, 1961). Nos humanos, após o contato com solo contaminado por fezes de animais infetados, as larvas L3 penetram na pele (Robertson & Thompson, 2002) e permanecem alojadas na pele, causando uma dermatite linear eritematosa e pruriginosa (Dhaliwal & Juyal, 2013).

## 2.3. Protozoários Gastrointestinais

### 2.3.1. *Cystoisospora* spp.

#### 2.3.1.1. Ciclo de vida

*Cystoisospora felis* e *C. rivolta* são protozoários intestinais comuns em gatos domésticos (Shah 1971) e felinos silvestres (Barreto e Almeida, 1973). Este parasita não apresenta risco zoonótico para o homem (Lappin, 2010).

Os oocistos são excretados pelos gatos através das fezes, não esporulados, ocorrendo a esporogonia no meio ambiente (Lappin, 2010). A esporulação ocorre em 40 horas quando a temperatura ambiente é de 20°C, em 24 horas a 25°C, 12 horas a 30°C e 8 horas a 38°C (Shah, 1970). A esporulação não ocorre acima dos 45°C (Bowman et al, 2002) e os oocistos mantêm a sua capacidade infetante durante vários meses em condições ambientais favoráveis (ESCCAP, 2011). A infecção dos gatos por *Cystoisospora* spp. ocorre quando os oocistos esporulados presentes no meio ambiente ou HP são ingeridos (Lappin, 2010). Na presença da bÍlis, os oocistos libertam 8 esporozoítos, que irão invadir as células epiteliais das porções distais das vilosidades do íleo, e mais raramente no duodeno e jejuno, onde ocorrerão as fases endógenas. *C. felis* pode ocasionalmente desenvolver-se no cego (Shah, 1971). Existem três gerações de esquizogonia, produzindo três tipos de merontes. A primeira geração de esquizontes (11–30 x 10–23 µm) é observada 4 dias após infecção e produz 16-17 merozoítos. A segunda geração, morfologicamente semelhante à primeira, é observada no quinto dia e produz 10 merozoítos. A terceira geração (12–16 x 4–5 µm) é observada no sexto dia e produzem 36-70 merozoítos (Shah, 1971). A fase sexual é observada 6 dias após infecção, formando-se macrogâmetas e microgâmetas (Bowman et al, 2002). As espécies *C. rivolta* e *C. felis* têm algumas diferenças no ciclo de vida, que estão sumarizadas na Tabela 4.

**Tabela 4** - Comparação do ciclo de vida das espécies de *Cystoisospora rivolta* e *Cystosisospora felis* (Shah 1971; Dubey, 1979).

	<b><i>C. rivolta</i></b>	<b><i>C. felis</i></b>
<b>Localização</b>	Enterócitos do Intestino delgado (jejuno, ileo)	Enterócitos do Intestino delgado (ileo) e cego
<b>Período pré patente</b>	4-7 dias	7-11 dias
<b>Período Patente</b>	> 14 – 23 dias	10 – 11 dias
<b>Nº de gerações esquizontes</b>	3	3
<b>Pico excreção oocistos</b>	Não foi encontrada literatura	Dia 6 do pp

As espécies do género *Cystoisospora* têm a capacidade de formar estágios extra-intestinais numa ampla variedade de HP que inclui ratos, hamsters (Frenkel & Dubey, 1972), pássaros (Lindsay & Blagburn, 1994) e coelhos (Costa & Lopes, 1994). Os esporozoítos penetram a parede intestinal e invadem linfonodos e outros tecidos extra intestinais, mantendo-se inalteradas sob a forma de um quisto monozóico (Dubey, Lindsay & Lappin, 2009). No caso de ingestão de HP, o ppp é ligeiramente mais curto (ESCCAP 2011).

#### **2.3.1.2. Epidemiologia**

Estes parasitas são bastantes comuns em felinos, não sendo claro se se infetam mais frequentemente por ingestão de oocistos existentes no meio ambiente ou por ingestão de HPs (Bowman et al, 2002). A infeção por *Cystoisospora* spp. é auto-limitante e números reduzidos de oocistos poderão ser excretados nas fezes durante várias semanas ou meses, mantendo-se a infeção inaparente (Bowman, 2014). Caso haja reinfeção e/ou situações de imunodepressão, os animais voltam a excretar oocistos (ESCCAP, 2011).

Em Portugal, na zona de Lisboa Waap et al, (2014) detetaram uma prevalência de *C. rivolta* de 46,3%, e *C. felis* 14,2%, e Duarte et al, (2010) detetaram uma prevalência de *C. felis* de 5.4%. Em Évora Ferreira et al, (2011) reportaram 5% de *Cystoisospora* spp. Vários estudos epidemiológicos em diversos países relataram a existência de *Cystoisospora* spp., estando alguns deles esquematizados na tabela 5.

**Tabela 5** - Estudos epidemiológicos que detetaram *Cystoisospora* spp., *C. felis* e *C. rivolta* em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo.

<b>País</b>	<b>Prevalência</b>	<b>População-alvo (n = amostras analisadas)</b>	<b>Exame efetuado</b>	<b>Referência</b>
<b>Albânia</b>	<i>C. felis</i> 5,6 %	Gatos errantes (n=18)	Necrópsia	(Knaus et al, 2011)
	<i>C. rivolta</i> 11,1%			
<b>Alemanha</b>	<i>C. felis</i> 4,4%	Gatos errantes (n=8560)	Flutuação com sulfato de zinco	(Barutzki & Schaper, 2011)
	<i>C. rivolta</i> 2,2%			
	<i>Cystoisospora</i> spp. 7,5%	Gatos errantes (n=837)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Becker et al, 2012)
<b>Hungria</b>	<i>Cystoisospora</i> spp. 4,3%	Gatos domésticos de zonas rurais (n=235)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Capári et al, 2013)
<b>Itália</b>	<i>Cystoisospora</i> spp. 4,5%	Gatos domésticos (n=81)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Riggio et al, 2013)
	<i>Cystoisospora</i> spp. 4,3%	Gatos de abrigo (n=139)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Spada et al, 2013)
<b>Portugal</b>	<i>C. rivolta</i> 46,3%	Gatos errantes (n=162)	Necrópsia	(Waap et al, 2014)
	<i>C. felis</i> 14,2%			
<b>Roménia</b>	<i>C. felis</i> 5,3%	Gatos domésticos (n=414)	Flutuação com NaCl	(Mircean, Titilincu & Vasile, 2010)
	<i>C. rivolta</i> 8,9%			

### 2.3.1.3. Fisiopatologia e sinais clínicos

Os sinais clínicos mais evidentes ocorrem em gatos jovens (Dubey, Lindsay & Lapin, 2009) havendo a possibilidade de demonstração de sinais clínicos estar associada a fatores de stress, como mudança para a casa do proprietário (Lindsay, Dubey & Blagburn, 1997). Os sinais clínicos observados podem incluir vômito, desconforto abdominal, inapetência e diarreia (Lappin, 2011). Gatos com menos de 6 meses demonstram taxas de excreção mais elevadas, e infeções massivas ocorrem quando estes são mantidos em situações de sobredensidade animal, associada à inexistência de medidas de higiene (Lopez, Abarkca, Paredes & Inzunza,



2006). Em gatos adultos, a maioria das infecções é subclínica. No entanto, pode ocorrer demonstração de sinais clínicos exuberantes em gatos mais velhos em situações de imunodepressão (Lappin, 2011), sendo os sinais clínicos mais frequentes a enterite hemorrágica, desidratação, anemia, anorexia, perda de peso e vômito (Tzannes et al, 2008). Num estudo experimental, gatos recém-nascidos foram inoculados com  $1 \times 10^5$  e  $1 \times 10^6$  oocistos de *C. rivolta*, observando-se que ocorria diarreia 3 e 4 dias após a inoculação, respetivamente. Nenhum dos recém-nascidos morreu (Dubey, 1979).

#### **2.3.1.4. Identificação e diagnóstico**

A infecção por *Cystoisospora* spp. é diagnosticada através da identificação de oocistos através do método de flutuação (Dubey et al, 2009). As duas espécies de *Cystoisospora* sp. que ocorrem em gatos podem ser distinguidas pelo tamanho e morfologia. *C. felis* mede 38-51 x 27-39  $\mu\text{m}$ , tende a ter uma forma oval e *C. rivolta* mede 18-28 x 16-23  $\mu\text{m}$  e tem uma forma esférica (Bowman et al, 2002).

#### **2.3.1.5. Tratamento e prevenção**

O objetivo principal em infecções por *Cystoisospora* em gatos jovens é resolver a diarreia (Dubey & Greene, 2006). A infecção é normalmente auto limitante e sinais moderados em animais saudáveis poderão resolver-se sem tratamento. No entanto, a administração de terapêutica adequada pode acelerar a resolução dos sinais clínicos e diminuir a contaminação ambiental (Lappin, 2010).

Administração de sulfonamidas a cada 24 horas durante 5-7 dias é eficiente no controlo de diarreia, mas não na excreção de oocistos. Toltrazuril e diclazuril são atualmente fármacos de escolha contra cistoisporidiose felina, mas não estão licenciadas nesta espécie (ESCCAP, 2011). Alguns estudos referem que toltrazuril reduz a excreção de oocistos em gatos (Lloyd & Smith 2001). As várias opções terapêuticas recomendadas por Bowman et al, (2002) estão reunidas na tabela 6.

**Tabela 6** - Tratamento de cistoisporose em gatos (Bowman et al, 2002).

<b>Fármaco</b>	<b>Protocolo</b>
<b>Sulfadimetoxina (SDM)</b>	50 mg/kg durante 10 dias ou 55 mg/kg 1 dia e 27,5 mg/kg até os sinais desaparecerem
<b>SMD + ornetoprim (OM)</b>	55 mg/kg SDM + 11 mg/kg OM até 23 dias
<b>Sulfaguanidina</b>	150 - 200 mg/kg durante 5 dias
<b>Sulfadiazine (SD) + Trimetoprim (TRI)</b>	25 - 50 mg/kg SD + 5 - 10 mg/kg TRI durante 6 dias para gatos > 4 kg 12,5 - 25 mg/kg SD + 2,5 - 5 mg/kg TRI durante 6 dias para gatos > 4 kg
<b>Amprólio (AMP)</b>	300 - 400 mg/kg durante 5 dias 110 - 220 mg/kg durante 7-12 dias
<b>AMP + SDM</b>	150 mg/kg AMP + 25 mg/kg SDM durante 14 dias
<b>Quinacrina</b>	10 mg/kg durante 5 dias
<b>Furazolidona</b>	8 - 20 mg/kg a cada 24 ou a cada 12h. Usar 1/2 dose se combinada com sulfonamidas

O risco de aquisição de infecção pode ser reduzido através de medidas higiênicas, incluindo remoção diária das fezes das caixas de areia. As superfícies devem ser mantidas secas, porque diminui o tempo de sobrevivência no meio ambiente (ESCCAP 2011). Os oocistos de *Cystoisospora* são bastante resistentes às condições ambientais e aos desinfetantes mais comuns (Dubey et al, 2009; Lappin, 2010). A limpeza é eficaz com vapor ou com recurso a imersão em água a ferver ou através de uma solução de amónia a 10% (Dubey et al, 2009).

### **2.3.2. *Giardia* e *Cryptosporidium***

#### **2.3.2.1. Ciclo de vida**

O ciclo biológico destes parasitas é direto e a transmissão ocorre por via oral (Ballweber, 2001; Dhaliwal & Juyal, 2013).

Existem dois estádios de *Giardia* spp. no ciclo de vida: trofozoítos e quisto. O trofozoíto é móvel, binucleado, flagelado com 9-21 x 5-12 µm. O quisto é ovóide com 8-15 x 7-10 µm (ESCCAP 2011), sendo o estágio mais importante na transmissão porque pode sobreviver no meio ambiente durante vários meses (Barr, 2006). Os trofozoítos também são eliminados nas fezes, nomeadamente em infeções agudas, porém não resistem às condições ambientais adversas como os quistos, sendo assim de menor importância na transmissão da parasitose. A excreção de quistos é possível em animais saudáveis e infetados (Gruffydd-Jones et al, 2013). Após a ingestão dos quistos, a cápsula é digerida por ação do ácido gástrico e de enzimas pancreáticas (Tagntrongsuo & Scorza, 2010) libertando dois trofozoítos que aderem às vilosidades do intestino delgado através do seu disco adesivo ventral (House, Richter, Pham & Dawson, 2011). Estes replicam-se por fissão binária, colonizando a mucosa do jejuno e íleo (Kirkpatrick & Farrell, 1984). Cada trofozoíto virá mais tarde a originar um quisto sendo posteriormente eliminado nas fezes (Ballweber, 2001). O ppp é 4-16 dias, e o pp persiste entre algumas semanas a vários meses (ESCCAP, 2011).

No caso de *Cryptosporidium* spp. o ciclo de vida é semelhante a outras coccídias intestinais, mas a esporulação ocorre no hospedeiro. Após a ingestão, cada oocisto liberta 4 esporozoítos que invadem a bordadura em escova das microvilosidades intestinais do intestino delgado, desenvolvem-se para merozoíto e finalmente em gametócitos, resultando na formação de oocistos (Lendner & Dauschies, 2014). Os gatos podem excretar oocistos por períodos de tempo extensos, que podem ir desde dos 3 até aos 5 meses (Asahi et al, 1991). São produzidos dois tipos de oocistos, um com parede espessa que são posteriormente eliminados com as fezes, e outro com parede fina que permite a sua própria rutura e consequente auto infeção (Weese et al, 2011).

#### **2.3.2.2. Epidemiologia**

Alguns estudos indicam que *Giardia* sp. é o parasita entérico mais comum em cães e gatos bem tratados de países desenvolvidos levantando questões sobre o significado clínico das infeções por este protozoário (Thompson, Palmer & O'Handley, 2008; Ballweber, Xiao, Bowman, Khanh & Cama, 2010; Barutzki & Schaper, 2011). Em Portugal, Ferreira et al, (2011), detetaram em Évora uma prevalência de 9% de *Giardia* spp. Estudos efetuados em felinos em vários países europeus que pesquisaram a presença de *Giardia* spp. e/ou *Cryptosporidium* spp. estão compilados na tabela 7.

**Tabela 7** - Estudos epidemiológicos que pesquisaram *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. em gatos de diferentes países Europeus com respectiva prevalência, exame efetuado e população-alvo.

País	Prevalência	População-alvo (n = amostras analisadas)	Exame efetuado	Referência
<b>Alemanha</b>	<i>Giardia</i> spp. 20,3%	Gatos com sinais gastrointestinais (n=4214)	Pesquisa de coproantigénio (IDEXX SNAP <i>Giardia</i> Test)	(Epe, Rehker, Schneider, Lorentzen & Kreienbrock, 2010)
	<i>Giardia</i> spp. 12,6%	Gatos domésticos (n=8650)	Pesquisa de coproantigénio (ProSpect®)	(Barutzki & Schaper, 2011)
<b>Holanda</b>	<i>Cryptosporidium</i> spp. 4,6%	Gatos domésticos (n=60)	Coloração Ziehl- Neelsen para	(Overgaauw et al., 2009)
	<i>Giardia</i> spp. 13,6%		<i>Cryptosporidium</i> e pesquisa de coproantigénio (ProSpect®) para <i>Giardia</i>	
<b>Itália</b>	<i>Cryptosporidium</i> spp. 0%	Gatos domésticos e errantes (n=181)	Teste	(Paoletti et al, 2011)
	<i>Giardia</i> spp. 6,1%		imunofluorescência (MERIFLUOR <i>Cryptosporidium</i> / <i>Giardia</i> ®) e PCR	
	<i>Cryptosporidium</i> <i>felis</i> 2%	Gatos domésticos (n=146)	Técnica molecular	(Mancianti et al., 2015)
	<i>Giardia</i> <i>duodenalis</i> 10,3%		(PCR)	
<b>Portugal</b>	<i>Giardia</i> spp. 9%	Gatos domésticos (n=20) e de abrigo (n=2)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Ferreira et al, 2011)
<b>Roménia</b>	<i>Giardia</i> <i>duodenalis</i> 0,7%	Gatos domésticos (n=414)	Flutuação com NaCl	(Mircean, Gyorke & Cozma, 2012)

### 2.3.2.3. Fisiopatologia e sinais clínicos

Estes parasitas causam danos e perda de células epiteliais do intestino delgado, provocando uma resposta inflamatória. Poderá haver atrofia das vilosidades intestinais, levando a uma diminuição da superfície de absorção, conduzindo a uma má absorção e má digestão (Lappin 2011; Gruffydd-Jones et al, 2013).

Os quadros clínicos mais exuberantes ocorrem em gatos jovens, imunodeprimidos (por ex., com infecções por vírus de leucemia felina) e/ou com outras infecções concomitantes, sendo o sinal mais comum a diarreia (Lappin, 2011). O mecanismo pela qual a diarreia é induzida ainda não é claro, mas pensa-se que está relacionado através da combinação de má absorção e hipersecreção. Tem características de diarreia de intestino delgado, mas por vezes pode demonstrar sinais de diarreia de intestino grosso, como muco ou sangue não digerido. É possível observar também anorexia, vômito, perda de peso e letargia (Gruffydd-Jones et al, 2013).

No caso da infecção por *Giardia* sp., muitas infecções não são seguidas de sinais clínicos, e a sua importância como agente patogénico em gatos ainda não é claro (Kirkpatrick & Farrel, 1984; Gruffydd-Jones et al, 2013). No entanto, baseado em informações de outras espécies, presume-se que a imunidade celular e a resposta IgA são fundamentais em providenciar imunidade protectora (Gruffydd-Jones et al, 2013).

### 2.3.2.4. Identificação e diagnóstico

A detecção de quistos e trofozoítos de *Giardia* spp. pode ser efetuada por esfregaço direto com fezes frescas, sendo possível observar a motilidade típica dos trofozoítos (Tangtrongsup & Scorza, 2010). Para a identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp., esta técnica é de baixa sensibilidade, pois o parasita apresenta dimensões muito reduzidas (Lappin, 2011).

Podem ser usados métodos de concentração para diagnóstico de *Giardia* sp. com sulfato de zinco ou solução açucarada. O sulfato de zinco é preferível em relação à solução açucarada, pois esta é hipertónica e distorce os quistos, dificultando a sua identificação (Zajac & Conboy, 2012). Como a excreção é intermitente, são necessárias três flutuações com sulfato de zinco para alcançar uma sensibilidade de 94% (Dryden, Payne & Smith, 2006). No caso de *Cryptosporidium* sp., esta técnica não é a mais apropriada devido às dimensões reduzidas dos oocistos (Scorza & Tangtrongsup, 2010).

O esfregaço fecal corado é o método de eleição para identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp. As técnicas de coloração que podem ser utilizadas incluem coloração por Ziehl-Neelsen e pela safranina (ESCCAP, 2011). Apesar de não ser a técnica de eleição para identificação de oocistos de *Giardia*, porque a sensibilidade ronda os 81,5%, é usada frequentemente pela vantagem de detetar também *Cryptosporidium* spp. (Fernandes, 2012). A imunofluorescência direta pode ser usada para diagnóstico de *Cryptosporidium* e *Giardia* através do uso de anticorpos monoclonais marcados com fluoresceína que são dirigidos

contra as proteínas da parede dos oocistos e dos quistos, aparecendo com fluorescência verde maçã sobre um fundo livre de fluorescência inespecífica (Garcia, Shum & Bruckner, 1992; Mekaru et al, 2007). No entanto, a necessidade de um microscópio de fluorescência limita o uso desta técnica (Bowman et al, 2002).

Existem testes *Enzyme-Linked Immunosorbent Assay* (ELISA) e imunocromatografia que estão comercialmente disponíveis. Técnicas de ELISA para detecção de antígeno em fezes, incluindo o SNAP test (IDEXX Ltd), são rápidas de realizar, fácil interpretação, custo acessível e permitem o seu uso *in house* (Mekaru, Marks, Felley, Chouicha & Kass, 2007). Possibilitam ainda um diagnóstico de infecções pré patentes ou quando o número de oocistos é baixo (ESCCAP, 2011). Os testes de imunocromatografia utilizam anticorpos monoclonais direcionados contra proteínas específicas da parede dos quistos e trofozoítos, como é o caso do Speed ® *Giardia* da BVT (Virbac) (Geurden & Claerebout, 2010). De acordo com o fabricante, este teste apresenta uma sensibilidade de 95,6% e uma especificidade de 100%, e possui um limiar de detecção de 80 quistos por grama de fezes.

A técnica de PCR é adequada para a identificação de diferentes espécies e genótipos de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp., particularmente na pesquisa epidemiológica e taxonômica e ajudam a clarificar o potencial zoonótico dos gatos (Ballweber et al., 2010). No entanto, estudos baseados em PCR no diagnóstico de *Giardia* spp., demonstraram proporções de positivos muito elevadas (80%), levantando a questão se detetaram infecções que não são clinicamente relevantes (McGlade, Robertson, Elliot & Thompson, 2003).

#### **2.3.2.5. Tratamento e prevenção**

Febendazol é o princípio ativo de eleição no tratamento de *Giardia* em gatos. A dose de 50mg/kg é aconselhada por 3 dias, mas este período de tempo pode ser estendido se a infecção persistir (Barr, 2006).

Metronidazol é outra opção terapêutica. Gatos já foram tratados eficazmente com 22-25mg, PO a cada 12h durante 5-7dias (Scorza & Lappin, 2004).

Albendazol é 50x mais eficaz contra *Giardia*, em relação ao metronidazol (Meloni, Thompson, Reynoldson & Seville, 1990). Infelizmente, há casos reportados de reações adversas em gatos (Stokol, Randolph, Nachbar, Rodi & Barr, 1997).

De um modo geral, o albendazol e febendazol são mais eficazes na cura da infecção por *Giardia*, mas não é tão seguro como o metronidazol (Bowmann, 2014).

Relativamente à criptosporidiose, não há fármacos consistentemente eficazes para o seu tratamento e não tem havido tentativas de tratar gatos experimentalmente infetados com *Cr. felis* (Lappin, 2011). Bowman et al, (2002) recomendam o tratamento com paromomicina 165mg/kg a cada 12h durante 5 dias, mas insuficiência renal aguda foi reportada como efeito secundário após uso de doses excessivas (Gookin, Riviere, Gilger & Papich, 1999). Bowman

(2014) reporta o uso de outros princípios ativos como tilosina (15 mg/kg a cada 8h durante 14-21 dias) e azitromicina (5-10 mg/kg a cada 12h durante 5-7 dias).

Relativamente à prevenção, a limpeza do meio ambiente, bebedouros, comedouros e remoção das fezes são medidas importantes. Há indicação que os quistos nas superfícies são inativados por compostos de amónio quaternário, apesar de não existirem desinfetantes registados para este propósito (ESCCAP 2011).

#### **2.3.2.6. Risco zoonótico**

*Giardia* sp. inclui pelo menos 8 grupos genéticos distintos ou *assemblages* (de A a H) (Ryan & Cacciò, 2013). As *assemblages* hospedeiro-específicas F afetam gatos e não é considerada zoonótica. No entanto, a *assemblage* A e B, específicas dos humanos, já foram reportadas em cães e gatos; os humanos são indicados como fonte de infeção dos animais (Ryan & Cacciò, 2013).

O género *Cryptosporidium* engloba 26 espécies (Ryan, Fayer & Xiao, 2014) e mais de 40 genótipos (Xiao 2010). Entre elas, *Cryptosporidium hominis* e *Cryptosporidium parvum* são mundialmente reconhecidas como importantes espécies que infetam humanos (Fayer 2010). Os gatos podem ser afetados por *Cr. felis* e *Cr. parvum* (Lucio-Forster, Griffiths, Cama, Xiao & Bowman, 2010). O *Cr. felis* tem um leque reduzido de hospedeiros, tendo potencial zoonótico limitado (Palmer et al, 2008a). No entanto, este não deve ser menosprezado pois existe um caso reportado de infeção por *Cr. felis* num humano imunodeprimido (Beser et al, 2015).

## 2.4. Céstodes

As espécies mais frequentes de céstodes albergadas pelos gatos pertencem à família Taeniidae com as espécies *Taenia taeniformis* e ocasionalmente *Echinococcus multilocularis*, e da família Dipylidiidae, com a espécie mais comum *Dipylidium caninum* e *Dipylidium joyeuxiella* (Rehbein et al., 2014). Os humanos podem ser infetados com céstodes provenientes de gatos como *Dipylidium caninum* ou *Echinococcus multilocularis* (Deplazes et al, 2011).

### 2.4.1. Ciclo de vida

O ciclo de vida dos céstodes é indireto, necessitando de um HI que se infeta através da ingestão ovos expulsos nas fezes de gatos. No caso de *D. caninum*, os HI são pulgas (*Ctenocephalides felis*, *C. canis* e *Pulex irritans*) e piolho (*Trichodectes canis*) e no caso da *Taenia taeniaeformis* são roedores, que albergam no fígado a larva de tipo estrobilocerco, *Cysticercus fasciolaris* (Bowman, 2014). A infeção do hospedeiro definitivo ocorre quando esteingere HI infetados. O céstode adulto habita o intestino delgado e é caracterizado pelo seu corpo achatado sem canal digestivo. É constituído por uma cabeça ou escoléx com órgãos de fixação e uma cadeia de segmentos, sendo cada segmento designado proglote (Urquart et al, 1996). Cada proglótide contém os órgãos reprodutores femininos e masculinos sendo que a *Taenia* spp. tem aparelhos reprodutores únicos, e no caso de *Dipylidium* spp. ocorre duplicação genital (Urquart et al, 1996). Os segmentos são visíveis no caso de *Taenia* spp. e *Dipylidium* spp., mas no caso de *Echinococcus* spp. são demasiado pequenos para serem visualizados (Jarvinen 2007).

O ppp de *D. caninum* é cerca 3 semanas. No caso de *Taenia taeniaeformis*, o ppp é entre 5-10 semanas (ESCCAP, 2010) e o pp pode durar entre 7 a 34 meses (Bowman et al, 2002)

### 2.4.2. Epidemiologia

Os céstodes são encontrados com pouca frequência durante exames fecais, mas a baixa prevalência pode estar relacionada com a pouca sensibilidade da coprologia para a deteção de ovos de céstodes (Bourdeau e Beugnet, 1993).

Em Portugal, na cidade de Lisboa, Duarte et al, (2010) detetaram 1,4% de *D. caninum* em 231 gatos de abrigo através de análise coprológica em amostras fecais. Anos mais tarde, Waap et al, (2014) detetaram 3,1% de *Taenia taeniaeformis* e 53,1% de *D. caninum* em 162 gatos errantes através de exame *post mortem*.

Num estudo que envolveu vários países europeus, 10.650 amostras fecais de gatos foram submetidas a um método de flutuação e foram detetados ovos da família Taeniidae em 37 amostras (0,34%). Após se efetuar PCR, 25 das amostras (0,23%) pertenciam à espécie *E. multilocularis* (Dyachenko, Pantchev, Gawlowska, Vrhovec & Bauer, 2008). Estudos em vários países europeus estão resumidos na tabela 8.



**Tabela 8** - Estudos epidemiológicos que detetaram céstodes em gatos de diferentes países Europeus com respetiva prevalência, exame efetuado e população-alvo.

País	Prevalência	População-alvo (n= amostras analizadas)	Exame efetuado	Referência
<b>Alemanha</b>	Taeniidae 0,6% <i>D. caninum</i> <0,1%	Gatos domésticos (n=8560)	Flutuação com sulfato de zinco	(Barutzki & Schaper, 2011)
	Taeniidae 2%	Gatos errantes (n=837)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Becker, Rohen & Schnieder, 2012)
<b>Grécia</b>	<i>D. caninum</i> 39,5% <i>T. taeniaeformis</i> 8,37%	Gatos errantes (n=215)	Flutuação com NaCl	(Lefkaditis et al, 2014)
<b>Hungria</b>	Taeniidae 4,7%	Gatos domésticos de zonas rurais (n=235)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Capári et al, 2013)
<b>Itália</b>	<i>D. caninum</i> 1,2%	Gatos domésticos (n=81)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Riggio et al, 2013)
<b>Portugal</b>	<i>D. caninum</i> 1,4%	Gatos de abrigo (n=231)	Técnica de flutuação - sedimentação	(Duarte et al, 2010)
	<i>D. caninum</i> 53,1% <i>T. taeniaeformis</i> 3,1%	Gatos errantes (n=162)	Necrópsia	(Waap et al, 2014)
<b>Roménia</b>	<i>D. caninum</i> 0,2% <i>T. taeniaeformis</i> 2,7%	Gatos domésticos (n=414)	Flutuação com NaCl	(Mircean et al, 2010)

#### 2.4.3. Fisiopatologia e Sinais Clínicos

Os céstodes, na grande parte das vezes, não causam sinais clínicos, com exceção de prurido anal (Weese, 2011) devido à passagem dos proglotes com as fezes, no caso de *Taenia* spp. (Zajac & Conboy, 2012), e pela movimentação ativa que os de *D. caninum* possuem (Urquhart et al, 1996). Os proglótes, de cor esbranquiçada, podem ser observados no períneo ou nas fezes (Jarvinen 2007). Em gatos com infeções graves por *D. caninum* podem ocorrer ocasionalmente convulsões (Boreham & Boreham, 1990). Obstrução intestinal por *T. taeniaeformis* foi reportada num gato (Wilcox, Bowman, Barr & Euclid, 2009).

#### 2.4.4. Identificação e Diagnóstico

O diagnóstico de infecção por céstodes pode ser realizado visualmente através da detecção de proglotes nas fezes na região perianal. Se comprimirmos uma proglótide contra uma lâmina e lamela, é possível a visualização de ovos, apesar existir a possibilidade de o proglótide não possuir ovos. Caso sejam ovos de *Dipylidium* sp., organizam-se em cápsulas ovíferas com 10-30 ovos cada (Bowman et al, 2002).

O método de flutuação – sedimentação pode ser usado para detetar ovos, mas falsos negativos ocorrem com frequência devido à excreção intermitente e distribuição não homogênea nas fezes (Weese 2011) e no caso de *D. caninum*, se o proglote não rupturar, os ovos não são visualizados (Zajac & Conboy, 2012). Ovos de *Dipylidium* medem 50 µm e são amarelos pálidos. Os ovos de *T. taeniformis* e *E. multilocularis* têm aproximadamente 30-35 µm, são esféricos, castanhos, contendo um embrião hexacanto (6 ganchos) ou oncosfera (Jarvinen, 2007) e não podem ser distinguidos microscopicamente (Weese 2011).

Testes para detecção de coproantígenos não estão disponíveis comercialmente e o PCR apenas é efetuado em laboratórios especializados (ESCCAP 2010), que usam o ADN mitocondrial para identificar espécies de céstodes (Trachsel, Deplazes, Mathis, 2007).

#### 2.4.5. Tratamento e Prevenção

O antihelmíntico com maior espectro de atuação contra céstodes é o praziquantel. Uma única dose PO ou SC elimina 100% de formas adultas e imaturas de *D. caninum* em gatos. Uma alternativa é o epsiprantel (Bowman et al, 2002). Praziquantel 2.5-7.5 mg/kg PO ou epsiprantel 2.8 mg/kg PO é eficaz no tratamento da infecção por céstodes (Weese, 2011).

No caso de *D. caninum*, o controlo de pulgas é essencial para prevenir a reinfeção (Jarviden 2007). No caso de *T. taeniformis* e *E. multilocularis*, o risco pode ser diminuído evitando hábitos de predação, nomeadamente sobre roedores (Weese, 2011)

#### 2.4.6. Risco zoonótico

*Echinococcus multilocularis* possui capacidade zoonótica, sendo de grande preocupação para a Saúde Pública. Os ovos têm capacidade infetante para os HI, incluindo humanos, logo após a expulsão pelos hospedeiros definitivos. Após a ingestão dos ovos, a fase larvar do parasita destrói o parênquima hepático, causando equinococose alveolar (Bowman et al, 2002). É uma doença considerada grave, que se não for tratada tem consequências fatais. (ESCCAP 2010). Quando comparados com os cães, os gatos são considerados epidemiologicamente hospedeiros menos significativos (Weese, 2011). Vogel (1957) infetou experimentalmente gatos, entre outras espécies, com *E. multilocularis*. O autor observou que cinco em seis gatos ficaram infetados, e estes excretaram menos ovos, comparativamente com outras espécies. Outros estudos seguiram Vogel e nunca conseguiram infetar experimentalmente todos os gatos incluídos no estudos (Crellin, Marchiondo & Anderson, 1980; Zeyhle & Bosche, 1982).

No caso de *D. caninum*, a infeção pode ocorrer se humanos ingerirem pulgas com a fase cisticercóide. É considerada uma doença de carácter esporádico (Bowman et al, 2002).

## **IV ESTUDO - Parasitoses pulmonares e gastrointestinais em felinos domésticos no Minho, Portugal**

### **1. Objetivos**

Tendo em conta que os estudos sobre parasitoses gastrointestinais e cardiopulmonares em felinos são escassos em Portugal e inexistentes na zona do Minho, o presente trabalho teve como objetivo estimar prevalência de parasitas gastrointestinais e cardiopulmonares em felinos da região do Minho. Este estudo envolveu colheita de amostras fecais de gatos e sua posterior análise parasitológica, através da técnica de Baermann, flutuação pelo método de Willis e Sedimentação natural e esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl Neelsen modificado.

### **2. Material e métodos**

#### **2.1. Caracterização das amostras e Área de Estudo**

No mês de Fevereiro e Março de 2016 foram recolhidas um total de 205 amostras fecais de gatos no distrito de Viana do Castelo, concretamente nos concelhos de Viana do Castelo e Ponte de Lima, e no distrito de Braga, nomeadamente nos concelhos de Amares, Braga, Guimarães e Vila Verde.

Em ambos os distritos, a escolha dos concelhos deveu-se à presença de gatis que, após contacto prévio, demonstraram interesse de colaborar com este projeto. No caso de amostras pertencentes a felinos de particulares, a escolha dos concelhos esteve relacionada com conveniência de proximidade.

#### **2.2. Colheita, transporte e acondicionamento das amostras**

A colheita de fezes foi efetuada da caixa de areia e, ocasionalmente, diretamente do chão. As amostras foram acondicionadas em sacos de plástico individuais, previamente identificados, e acondicionados numa caixa isotérmica refrigerada. Até ao processamento e análise, as amostras foram refrigeradas a 4°C de modo a evitar o desenvolvimento de ovos, larvas ou oocistos.

#### **2.3. Análises laboratoriais**

##### **2.3.1. Técnica de Baermann**

A técnica de Baermann necessita equipamento que suspenda a amostra fecal em água morna, de modo a que as larvas migrem para o fundo de um copo cónico e possam ser recolhidas com uma pipeta de Pasteur descartável (Fig.4) (Zajac & Conboy, 2012).

1. Colocar 10 gramas de fezes numa gaze, e com a ajuda de um clip, embrulhar as fezes e prender ao topo de um copo cónico.

2. Encher o copo cónico com água da torneira morna, de modo a que a amostra fecal fique totalmente submersa. Assegurar que os cantos da gaze ficam dentro do copo, porque caso contrário conduzirão água para fora do copo.
3. Aguardar 24 horas, à temperatura ambiente.
4. Remover a amostra fecal, eliminar sobrenadante do copo e esperar 15 minutos.
5. Recolher alguns ml do sedimento com uma pipeta de Pasteur descartável e colocar entre lâmina e lamela.
6. Observar ao microscópio ótico a totalidade da lamela na ampliação de 100x. Para observar pormenores morfológicos, usar a ampliação de 400x.

**Figura 4** – Técnica de Baermann: Copos cónicos com amostras fecais submersas (original).



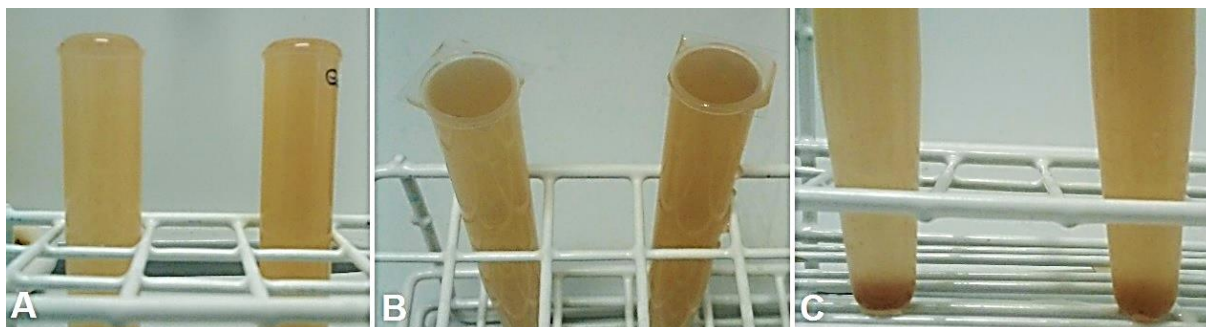
### 2.3.2. Flutuação de Willis e Sedimentação natural

O material necessário para cada amostra inclui um pequeno copo de plástico, vareta de vidro, funil, passador de rede metálica, tubo de ensaio, lamela e solução saturada de açúcar (Urquhart et al, 1996).

1. Homogeneizar uma pequena porção de fezes com solução saturada de Sacarose.
2. Filtrar com um passador de rede metálica para um tubo de ensaio e criar no topo um pequeno menisco convexo no qual se aplica de imediato uma lamela (Fig. 5A e 3B).
3. Esperar 15 minutos, retirar a lamela e colocá-la em cima de uma lâmina de vidro.
4. Eliminar o sobrenadante, retirar alguns ml do sedimento (Fig. 5C), colocar entre lâmina e lamela.
5. Observar ao microscópio usando ampliação de 40x, 100x e 400x.

A densidade da solução saturada de açúcar determina a flutuação de ovos de parasitas gastrointestinais e determina a sedimentação de outros com densidade superior à da solução saturada (Zajac & Conboy, 2012).

**Figura 5** - Técnica de Flutuação de Willis e Sedimentação realizadas em simultâneo com solução saturada de Sacarose A: Menisco convexo B: Colocação da lamela C: Sedimento. (Originais).



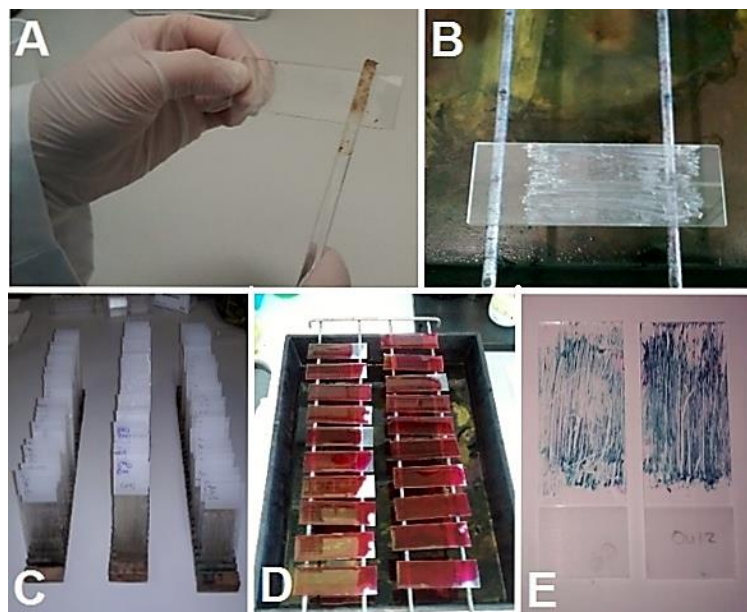
### 2.3.3. Esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl-Neelsen modificado

Foi realizado um esfregaço fecal por cada amostra fecal. Para tal, foi retirado uma pequena porção de fezes com auxílio de uma vareta de vidro, e distribuido numa lâmina de modo a formar uma fina camada (Fig. 6A). Após secagem ao ar durante 24 horas foi seguido o seguinte protocolo de coloração Ziehl-Neelsen modificado (Casemore, Armstrong & Sands, 1985):

1. Fixação com metanol durante 1 minuto.
2. Fucsina durante 10 minutos.
3. Lavagem em água corrente.
4. Lavagem com álcool clorídrico a 1%.
5. Lavagem em água corrente.
6. Verde malaquite a 0,4% durante 30 segundos.
7. Lavagem em água corrente.

Depois da secagem ao ar durante 24 horas, os esfregaços foram observados numa ampliação de 1000x, com recurso a objetiva de 100x e óleo de imersão, para pesquisa de quistos de *Giardia* sp. e oocistos de *Cryptosporidium* sp.

**Figura 6** - Esfregaços fecais corados pela técnica de Ziehl-Neelsen modificado: A) realização do esfregaço fecal; B) aspecto do esfregaço fecal antes da coloração; C) secagem dos esfregaços ao ar; D) aspecto de coloração de esfregaços com fucsina; E) aspecto final dos esfregaços corados. (Originais).



#### 2.4. Análise estatística

Os resultados obtidos foram armazenados no *software* Microsoft Office Excel 2013 (Marques & Costa, 2014). Posteriormente foi realizada a análise estatística através das plataformas de cálculo Epitools e com o *package* R Commander do *software* R versão 3.2.3 (Fox, 2005). A primeira permitiu calcular a prevalência dos parasitas em estudo, assim como o intervalo de confiança de 95%, segundo os limites de Wilson. A utilização do *software* R Commander permitiu determinar a eventual existência de associações estatísticas entre as prevalências e certos fatores, nomeadamente a origem geográfica (distrito e concelho) e o estado das fezes (diarreicas ou normais). De modo a realizar o seu cálculo, os parâmetros sensibilidade e especificidade das técnicas de diagnóstico utilizadas foram considerados de valor igual a um. Para isso foi utilizado o teste de Qui-Quadrado, sendo os resultados considerados significativos no caso do valor de p ser inferior a 0,05.

### **3. Resultados**

#### **3.1. Área de Estudo**

O distrito de Viana do Castelo divide-se em 10 concelhos, dos quais Ponte de Lima e Viana do Castelo foram integrados neste estudo. Ponte de Lima possui 43.498 habitantes e Viana do Castelo possui 88.725 habitantes (Censos 2011 – resultados definitivos).

O distrito de Braga divide-se em 14 concelhos, dos quais Amares, Braga, Vila Verde e Guimarães foram alvos deste estudo. Amares possui 18.889 habitantes, Braga possui 181.494 habitantes, Guimarães possui 158.124 habitantes e Vila Verde possui 47.888 habitantes (Censos 2011 – resultados definitivos).

Não é possível estimar o número de gatos presentes na área, devido à falta de registos. No entanto, é possível afirmar que, segundo um estudo TGI da Marktest, 2,4 milhões de portugueses têm pelo menos um gato como animal de estimação, isto é, 27,9% dos residentes em Portugal Continental, com mais de 15 anos.

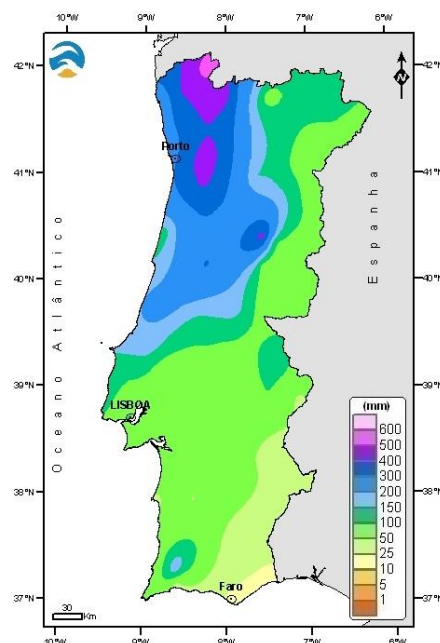
#### **3.2. Clima**

As condições climáticas são importantes, particularmente no caso de parasitas que completam os ciclos biológicos no ambiente ou que estão dependentes de vetores para a sua sobrevivência e perpetuação do ciclo de vida.

A zona do Minho apresenta temperaturas médias amenas ao longo do ano, precipitação abundante todo o ano, sobretudo no Outono e Inverno, e menor duração da estação seca. A recolha de amostras fecais ocorreu durante o mês de Fevereiro de 2016. Segundo o boletim climatológico de Fevereiro de 2016, referente a Portugal Continental, do Instituto Português do Mar e Atmosfera (IPMA), nos primeiros quinze dias deste mês em algumas estações do norte, os valores da quantidade de precipitação excederam o correspondente valor médio mensal. Em particular, a zona do Minho foi uma das áreas de Portugal continental que apresentou uma maior precipitação total (mm), como é possível observar na figura 7. De acordo com este mesmo boletim, no mês de Fevereiro a média da temperatura mínima em Viana do Castelo foi 6.6 °C, em Braga 5.2 °C e a média da temperatura máxima em Viana do Castelo foi 13.8 °C, em Braga 14.5 °C.



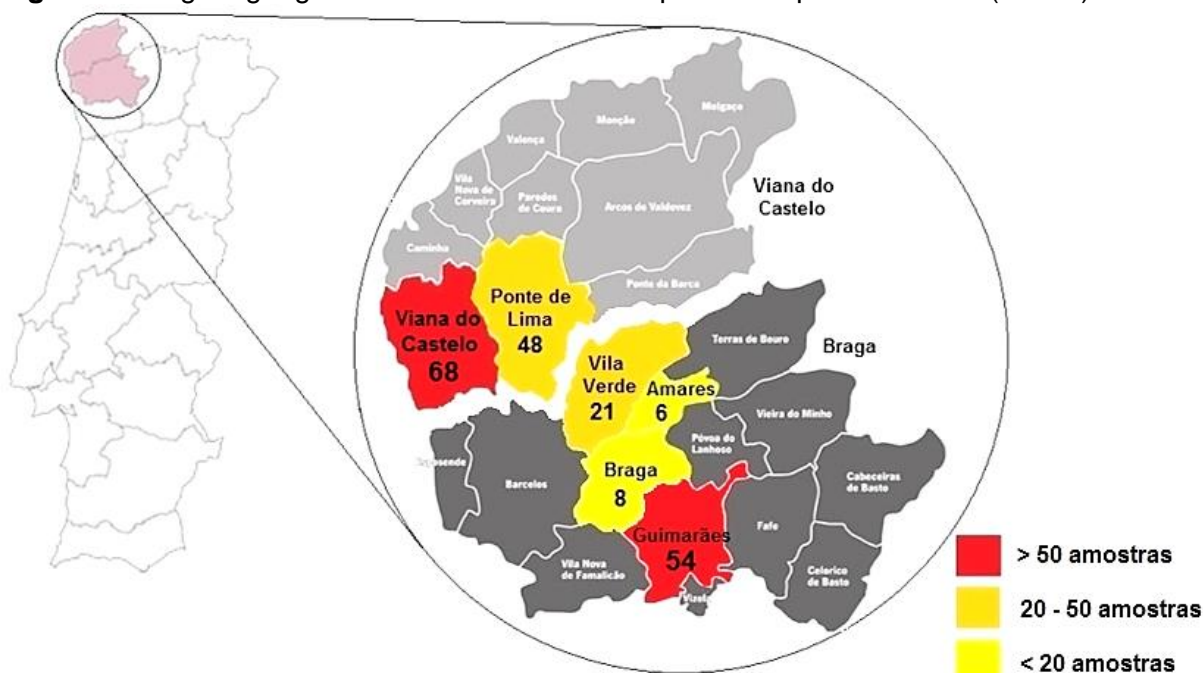
**Figura 7** - Precipitação Total em mm no mês de Fevereiro de 2016 em Portugal Continental (Boletim climatológico de Fevereiro de 2016, IPMA).



### 3.3. Caracterização das amostras

Entre Fevereiro de 2016 e Abril de 2016 foram colhidas e analisadas 205 amostras fecais de gatos dos distritos de Viana do Castelo (n=116) e Braga (n=89). Os concelhos abrangidos na colheita de amostras foram Ponte de Lima, Viana do Castelo no distrito de Viana do Castelo e Braga, Guimarães, Amares e Vila Verde no distrito de Braga. O número de amostras colhidas em cada concelho estão discriminadas e aglomeradas através de uma escala com três cores na figura 8. As amostras fecais provieram de gatis, um Centro de Atendimento Médico Veterinário (CAMV) e de particulares.

**Figura 8** - Origem geográfica das amostras fecais por município de recolha (n=205)



Nos locais de recolha era realizada uma pequena entrevista aos tratadores ou proprietários, de modo a perceber a existência ou não de esquema de controlo parasitário e possíveis sinais clínicos passíveis de serem detetados pelos tratadores, como sinais respiratórios. Foram colhidas o máximo de amostras fecais possível, que se procedeu diretamente das caixas de areia e ocasionalmente do chão. Não foi possível corresponder a amostra fecal ao respectivo animal. No caso de gatis comuns, foi impossível saber o sexo e idade dos animais. Em 205 amostras, 47,8% (98/205) apresentavam-se como fezes normais, ou seja, normalizadas em termos de consistência e volume, enquanto as restantes 52,2% (107/205) eram fezes diarreicas, de acordo com a classificação de Hall & German (2010).

### 3.4. Origem das amostras

#### 3.4.1. Associação A

A Associação A é uma associação sem fins lucrativos. As instalações estão situadas no concelho de Ponte de Lima e rodeadas por uma zona altamente arborizada (Fig. 9A). Alberga gatos e cães sem proprietário, provenientes de Ponte de Lima ou de outros concelhos vizinhos. Os gatos estão alojados num cercado de rede coberto (Fig. 9C), sendo frequente a entrada de pássaros, ratos e caracóis (Fig. 9D), como referido pela tratadora. A limpeza das caixas de areia é efetuada diariamente pela manhã. Possui uma zona de descanso, zona de alimentação e caixas de areia espalhadas pela área (Fig. 9B). Não havia existência de um esquema parasitário e a tratadora reportou a existência de espirros e tosse esporadicamente.

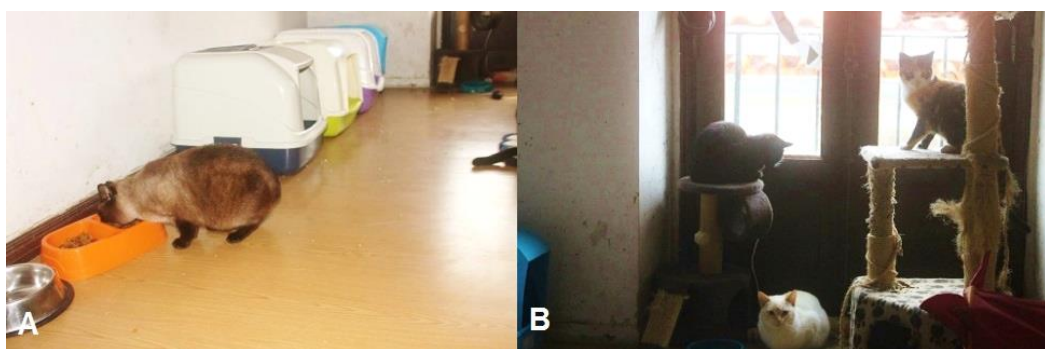
**Figura 9** - A) Instalações do gatil da Associação A; (seta branca) B) vista interior do gatil, englobando a zona de descanso e recreio; C) Proximidade com área verde; D) Carapaça de caracol parcial; (Originais).



### 3.4.2. Associação B

Associação B é uma associação sem fins lucrativos. Está situada no concelho de Viana do Castelo e acolhe gatos num apartamento sem acesso ao exterior (Fig. 10). Possui paralelamente um plano de captura, esterilização e devolução ao local de origem. Antes de serem integrados na comunidade, os felinos eram desparasitados externa e internamente e separados da restante comunidade durante uma semana. Os tratadores não detetaram a existência de sinais respiratórios. Contudo aquando da recolha de amostras, foi possível observar que um gato recentemente integrado na comunidade apresentava dispneia.

**Figura 10** – A) Zonas de comedouros e caixas de areia; B) Zona de recreio. Fotografias gentilmente cedidas pela associação B.



### 3.4.3. Associação C

A associação C está situada no concelho de Guimarães. O gatil alberga os animais numa divisão com áreas de descanso (Fig.11 A), com caixas de areia (Fig.11 B) e zona de alimentação (Fig.11C). O pavimento do gatil era constituído por um material sem capacidade absorvente e sem possibilidade de escoamento. Os tratadores não detetaram sinais de doença respiratória, no entanto aquando da recolha de fezes foi possível ouvir um animal a tossir.

**Figura 11** - A) Zona de descanso; B) zona das caixas de areia; C) zona de alimentação. Fotografias gentilmente cedidas pela Dra. Guida Brito.



#### **3.4.4. Associação D**

A associação D é uma associação sem fins lucrativos criada no início de 2010. Está situada no concelho de Viana do Castelo e acolhe cães e gatos sem proprietário ou abandonados. Por questões logísticas, os felinos são albergados pela Clínica Veterinária X, estando alojados em jaulas individuais.

#### **3.4.5. Particulares**

As amostras fecais de gatos com proprietário englobaram os concelhos de Viana do Castelo, Braga, Vila Verde e Amares. As amostras provenientes do concelho de Amares pertenciam a gatos que estiveram internados num CAMV para realização de procedimentos eletivos. As restantes amostras foram fornecidas pelos proprietários. Todos os animais tinham acesso permanente ou temporário ao exterior e a maioria destes não eram desparasitados ou a última desparasitação tinha ocorrido há mais de 3 meses.

#### **3.5. Pesquisa de Parasitas Gastrointestinais e Pulmonares**

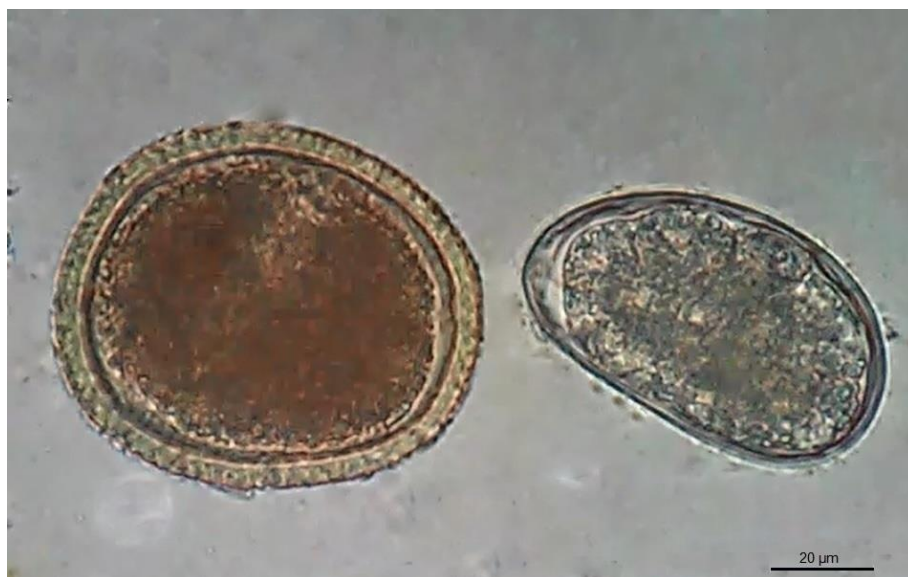
No âmbito deste estudo foram analisadas um total de 205 amostras através da técnica de Baermann, Flutuação de Willis, sedimentação natural e Esfregaço fecal corado pela técnica de Ziehl Neelsen modificado. Os resultados obtidos basearam-se em uma amostra fecal, sendo provável que a prevalência de alguns parasitas seja maior do que a detetada devido à excreção intermitente e período de infeção pré patente. Apesar de os métodos de concentração e flutuação permitirem a deteção de uma grande variedade de parasitas, a sua sensibilidade para deteção de protozoários, céstodes operculados, trematódes é baixa (Zajac & Conboy, 2012).

O número de amostras infetadas com pelo menos um parasita foi de 63,9% (131/205) [IC 95%: 57,1% - 70,2%]. Nessas amostras positivas, o grupo de parasitas observado com mais frequência foi o dos nemátodes com prevalência de 92,4% (121/131), seguido dos protozoários com uma prevalência de 21,4% (28/131).

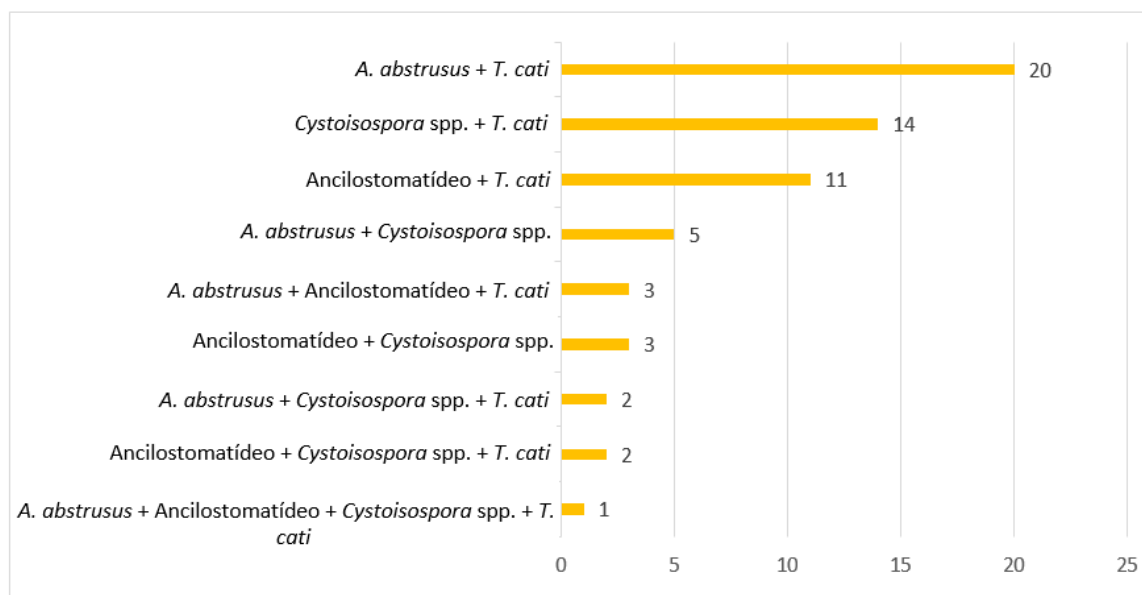
Em 205 amostras, 43 apresentavam duas ou mais formas parasitárias, ou seja infeções mistas (fig.12), revelando uma prevalência de 21% [IC 95%: 16 – 27.1]. No gráfico 1 é possível observar a caracterização das infeções mistas observadas.



**Figura 12** - Infecção mista com ovos de *T. cati* e Ancilostomatídeo (original).

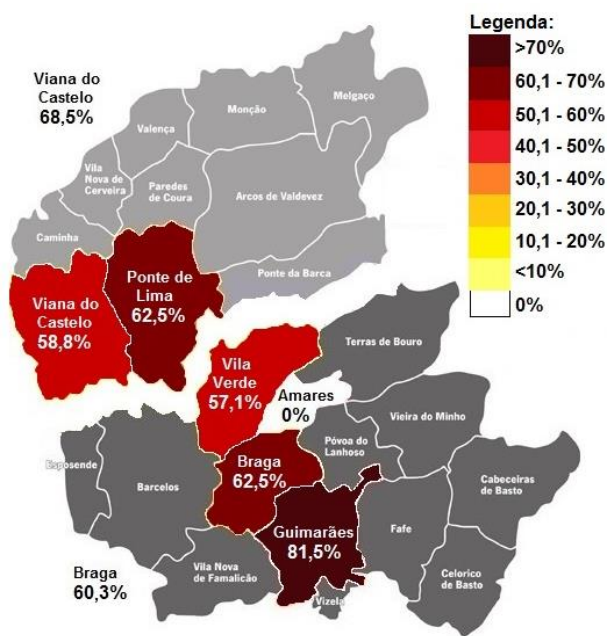


**Gráfico 1** – Caracterização das infecções mistas observadas



Relativamente aos resultados globais de cada distrito, Braga obteve 68,5% (61/89) [IC 95%: 58,3 – 77,2] das amostras positivas e Viana do Castelo 60,3% (70/116) [IC 95%: 51,2 – 68,8]. Em relação aos concelhos, como demonstrado na figura 13, o concelho de Guimarães foi o que apresentou a maior prevalência de amostras positivas e o concelho de Amares foi o concelho com a menor prevalência de todos, não demonstrando qualquer forma parasitária nas técnicas efetuadas. As prevalências e respetivos intervalos de confiança de cada concelho estão representados na tabela 9.

**Figura 13** - Distribuição das prevalências totais de parasitas gastrointestinais e pulmonares nos concelhos estudados.



**Tabela 9** - Caracterização da infeção por parasitas gastrointestinais e pulmonares nos concelhos de Braga e Viana do Castelo.

Concelho	Prevalência /Frequência	IC 95%
Amares	0% (0/6)	[0 – 39%]
Braga	62,5% (5/8)	[30,6-86,3%]
Guimarães	81,5% (44/54)	[69,2-89,6%]
Ponte de Lima	62,5% (30/48)	[48,4-74,8%]
Viana do Castelo	58,8% (40/68)	[47-69,7%]
Vila Verde	57,1% (12/21)	[36,5-75,5%]

### 3.5.1. Resultados da pesquisa de parasitas pulmonares

#### 3.5.1.1. Resultados globais

Como indicado anteriormente, a pesquisa de L1 de metastrongilídeos foi realizada com recurso à técnica de Baermann. Num total de 205 amostras foram encontradas larvas L1 de *A. abstrusus* (Fig. 14) em 46 amostras fecais. A presença de larvas L1 permite considerar o animal positivo na pesquisa deste nemátode pulmonar e, portanto, determinar a sua prevalência: 22,4% (46/205) [IC 95%: 17,3% - 28,6%]. Em 46 amostras positivas, 58,7% (27/46) eram fezes diarreicas.

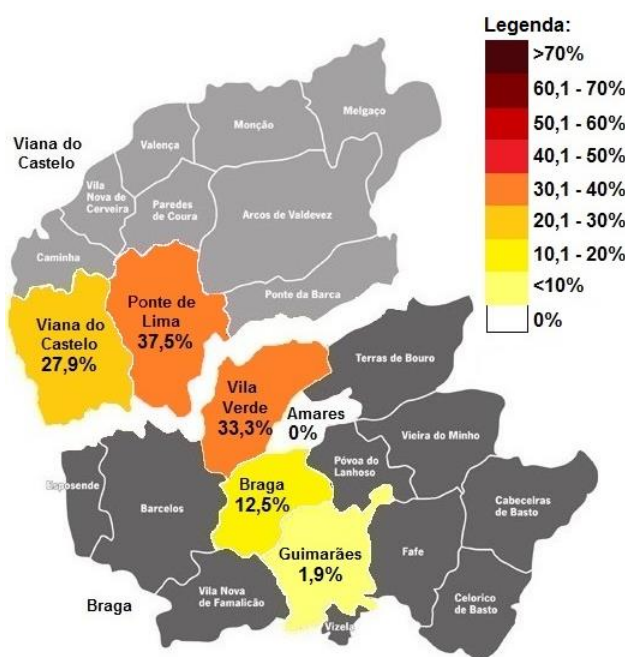
**Figura 14** – L1 de *Aelurostrongylus abstrusus* recuperadas através da técnica de Baermann (originais).



### 3.5.1.2. Resultados a nível distrital e por concelho

O distrito em que se notou uma maior prevalência de *Aelurostrongylus abstrusus* foi Viana do Castelo com 31,9% (37/116) [IC 95%: 24,1% - 40,8%] dos animais infetados. O distrito de Braga registou uma prevalência de 10,1% (9/89) de *A. abstrusus* [IC 95%: 5,4% - 18,1%]. A proporção de infeção foi variável nos diferentes concelhos (fig. 15), variando entre 0% e 37,5% (tabela 10). Este parasita foi detetado em todos os concelhos, exceto Amares.

**Figura 15** - Distribuição das prevalências encontradas para *A. abstrusus* nos concelhos estudados.



**Tabela 10** – Caracterização da prevalência de *A. abstrusus*, frequência e respetivos intervalos de confiança nos diferentes concelhos.

Concelho	Prevalência /Frequência	IC 95%
Amares	0% (0/6)	[0 – 39%]
Braga	12,5% (1/8)	[2,2 – 47,1%]
Guimarães	1,9% (1/54)	[0,3 – 9,8%]
Ponte de Lima	37,5% (18/48)	[25,2–51,6%]
Viana do Castelo	27,9% (19/68)	[18,7–39,6%]
Vila Verde	33,3% (7/21)	[17,2–54,6%]



### 3.5.2. Resultados da pesquisa de Parasitas Gastrointestinais

#### 3.5.2.1. Resultados Globais

A pesquisa de parasitas gastrointestinais foi realizada com recurso à técnica de flutuação de Willis, sedimentação natural e esfregaço fecal corado através da técnica de Ziehl Neelsen modificado.

O número de amostras infetadas com parasitas gastrointestinais foram 108/205, ou seja 52,7% [IC 95%: 45,9-59,4].

Os ovos e oocistos de parasitas gastrointestinais observados foram classificados e registados, sempre que possível recorrendo à espécie, como *Toxocara cati*, *Cystoisospora rivolta* e *Cystoisospora felis*. Relativamente a Ancilostomatidae, apenas foi possível classificar a respetiva família.

#### 3.5.2.2. Resultados a nível distrital

No distrito de Viana do Castelo a prevalência de parasitas gastrointestinais foi 44,8% (52/116) [IC 95%: 36,1-53,9]. Os dois grupos foram detetados neste distrito, sendo que o dos nemátodes representou 44% das amostras positivas (51/116), e o dos protozoários 6% (7/116). Na tabela 11 estão discriminadas as infeções observadas neste distrito.

**Tabela 11** – Caracterização das amostras com parasitas gastrointestinais presentes no distrito de Viana do Castelo através da prevalência, frequência e respetivos intervalos de confiança

Parasita (s)	Prevalência / Frequência	IC 95%
<i>Toxocara cati</i>	41,4% (48/116)	[32,8 – 50,5%]
<i>Cystoisospora rivolta</i>	3,4% (4/116)	[1,3 – 8,5%]
<i>Cystoisospora felis</i> .	2,6% (3/116)	[0,9 – 7,3%]
Ancilostomatídeo	1,7% (2/116)	[0,5 – 6,1%]
Ancilostomatídeo + <i>Toxocara cati</i>	1,7% (2/116)	[0,5 – 6,1%]
<i>Cystoisospora felis</i> + <i>Toxocara cati</i>	0,9% (1/116)	[0,2 – 4,7%]
Ancilostomatídeo + <i>Cystoisospora rivolta</i> + <i>Toxocara cati</i>	0,9% (1/116)	[0,2 – 4,7%]

No distrito de Braga a prevalência de parasitas gastrointestinais foi de 62,9% (56/89) [IC 95%: 52,5-72,2].

Os dois grupos parasitários detetados neste distrito foram o dos nemátodes, 52,8% (47/89) e o dos protozoários 23,6% (21/89). O parasita mais observado foi, à semelhança do distrito de Viana do Castelo, *T. cati*, com 51,7% de prevalência. Na tabela 12 é possível observar a caracterização das amostras positivas observadas no distrito de Braga

**Tabela 12** - Caracterização das amostras com parasitas gastrointestinais presentes no distrito de Braga através da prevalência, frequência e respetivos intervalos de confiança.

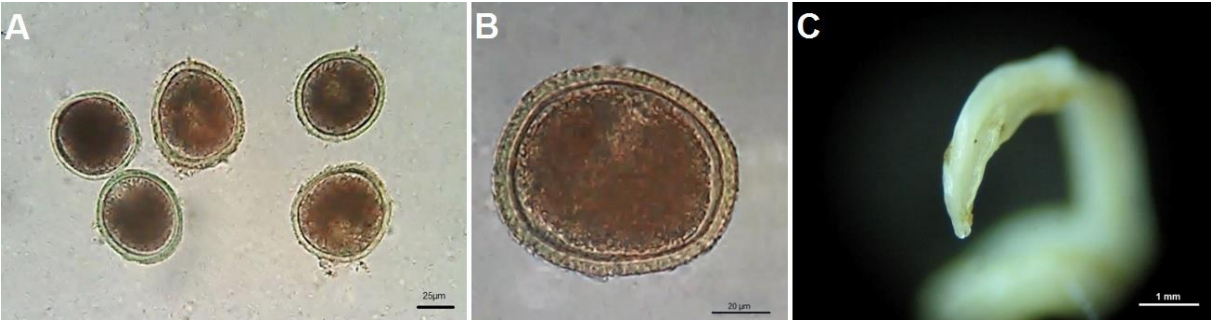
Parasita (s)	Prevalência / Frequência	IC 95%
<i>Toxocara cati</i>	51,7% (46/89)	[41,5 – 61,8%]
<i>Cystoisospora rivolta</i>	18,0% (16/89)	[11,4 – 27,2%]
Ancilostomatídeo	11,2% (10/89)	[6,2 – 19,5%]
<i>Cystoisospora felis</i>	9,0% (8/89)	[4,6 – 16,7%]
Ancilostomatídeo + <i>T. cati</i>	9,0% (8/89)	[4,6 – 16,7%]
<i>C. rivolta</i> + <i>T. cati</i>	9,0% (8/89)	[4,6 – 16,7%]
<i>C. felis</i> + <i>T. cati</i>	4,5% (4/89)	[1,8 – 11%]
Ancilostomatídeo + <i>C. rivolta</i> + <i>T. cati</i>	1,1% (1/89)	[0,2 – 6,1%]
<i>C. felis</i> + <i>C. rivolta</i> + <i>T. cati</i>	1,1% (1/89)	[0,2 – 6,1%]
Ancilostomatídeo + <i>C. felis</i> + <i>C. rivolta</i>	1,1% (1/89)	[0,2 – 6,1%]

### 3.5.2.3. Resultados por parasitas

#### 3.5.2.3.1. Prevalência de *Toxocara cati*

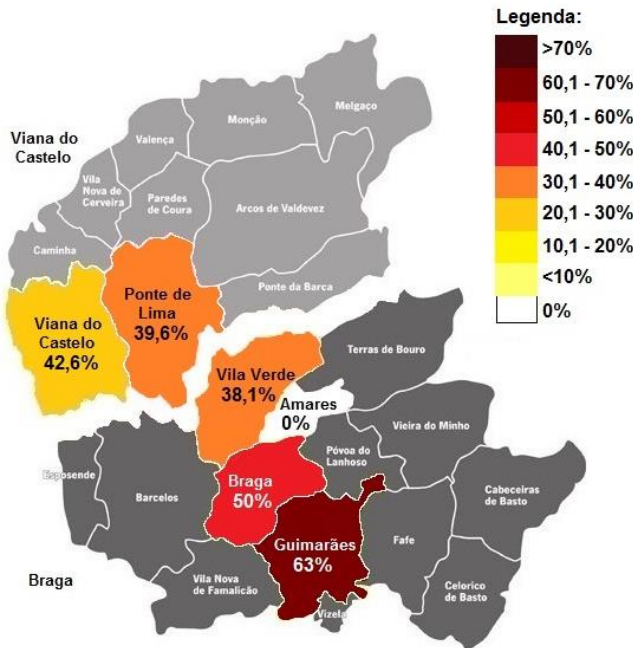
A infecção mais observada foi por helmintes pertencentes à família Toxocaridae. Em 205 amostras, 94 demonstraram ovos de *T. cati* (Fig. 16 A e B), revelando uma prevalência de 45,9% [IC 95%: 39,2-52,7]. Apenas uma amostra demonstrou a presença de um verme adulto (Fig. 16 C). Do total de fezes que continham ovos de *T. cati*, 50% eram diarreicas (47/94).

**Figura 16** - Formas parasitárias de *T. cati*. A e B) Ovos observados pelo método de flutuação de Willis. C) Verme adulto. (Originais).



A prevalência mais elevada de *Toxocara cati* registou-se no concelho de Guimarães, com 63% (34/54) das amostras positivas. O concelho com a segunda prevalência mais elevada foi Braga, com 50% (4/8), seguido pelo concelho de Viana do Castelo com 42,6% (29/68), Ponte de Lima 39,6% (19/48) e Vila Verde 38,1% (8/21). O concelho de Amares não demonstrou nenhum *T. cati*. Estes dados encontram-se reunidos na figura 17 e na tabela 13.

**Figura 17** - Distribuição das prevalências encontradas para *T. cati* nos concelhos estudados



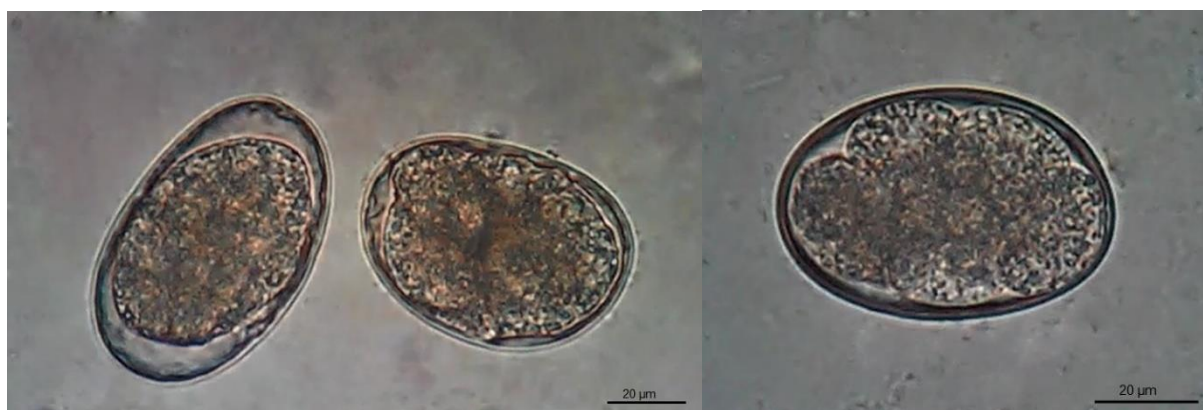
**Tabela 13** - Caracterização da prevalência de *T. cati*, frequência e respetivos intervalos de confiança nos diferentes concelhos

Concelho	Prevalência/ Frequência	IC 95%
Amares	0% (0/6)	[0- 39%]
Braga	50% (4/8)	[21,5- 78,5%]
Guimarães	63% (34/54)	[49,6- 74,6%]
Ponte de Lima	39,6% (19/48)	[27- 53,7%]
Viana do Castelo	42,6% (29/68)	[31,6- 54,5%]
Vila Verde	38,1% (8/21)	[20,8- 59,1%]

### 3.5.2.3.2. Prevalência de Ancilostomatídeos

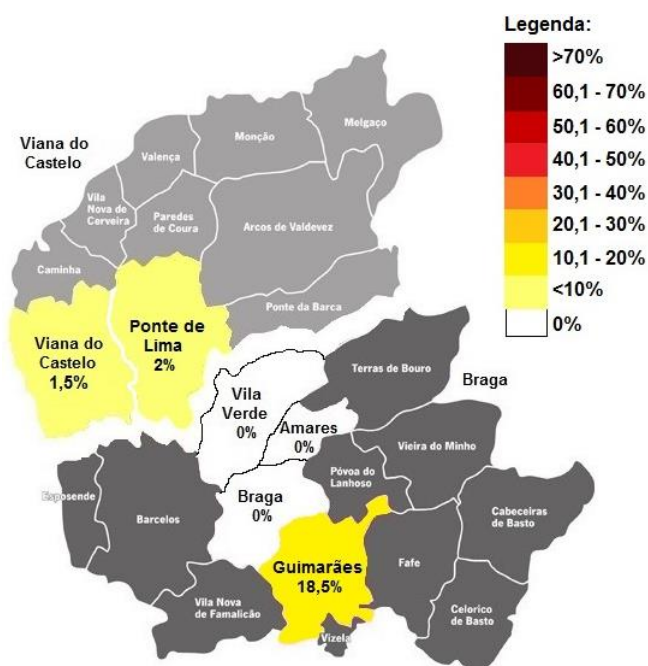
Em 205 amostras fecais foram observadas ovos de Ancilostomatídeos (Fig. 18) em 12 amostras, revelando uma prevalência global de 5,9% [IC 95%: 3,4-10]. Das 12 amostras onde foram observadas ovos de Ancilostomatídeos, 25% (3/12) foram consideradas como fezes diarreicas.

**Figura 18** - Ovos de Ancilostomatídeo observados pelo método de flutuação de Willis (original).



A prevalência mais elevada foi registada no concelho de Guimarães com 18,5% (10/54), seguido do concelho de Ponte de Lima 2% (1/48) e por último Viana do Castelo com 1,5% (1/68). Os concelhos de Amares, Braga e Vila Verde não demonstraram qualquer forma parasitária de Ancilostomatídeos. Estes dados encontram-se reunidos na figura 19 e na tabela 14.

**Figura 19** - Distribuição das prevalências encontradas para Ancilostomatídeos nos concelhos estudados.



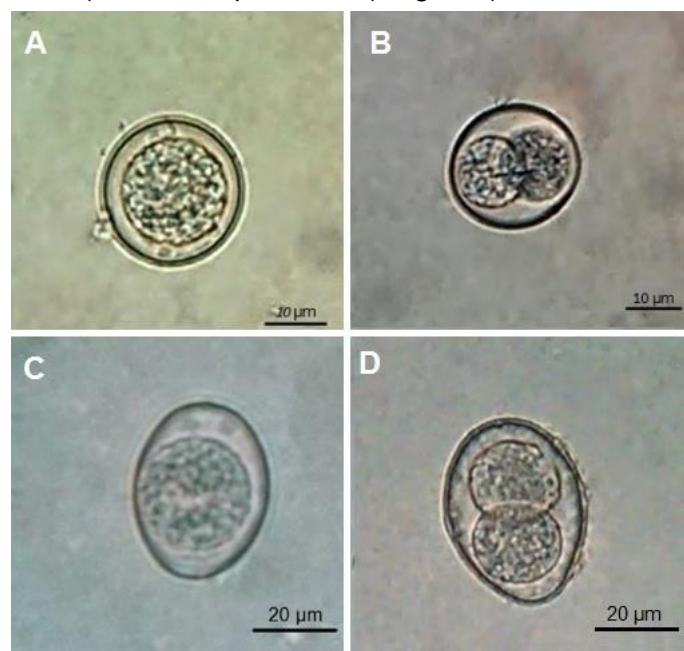
**Tabela 14** - Caracterização da prevalência de Ancilostomatídeos, frequência e respectivos intervalos de confiança nos diferentes concelhos.

Concelho	Prevalência/ Frequência	IC 95%
Amares	0% (0/6)	[0-39%]
Braga	0% (0/8)	[0-32,4%]
Guimarães	18,5% (10/54)	[10,4-30,8%]
Ponte de Lima	2% (1/48)	[0,4-10,9%]
Viana do Castelo	1,5% (1/68)	[0,3-7,9%]
Vila Verde	0% (0/21)	[0-15,5%]

### 3.5.2.3.3. Prevalência de *Cystoisospora* spp.

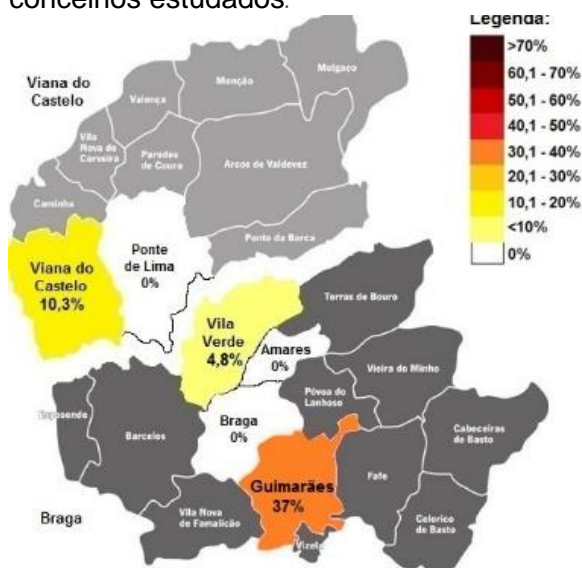
A técnica de flutuação de Willis demonstrou uma prevalência global de 13,7% (28/205) de *Cystoisospora* spp. (Fig. 20) [IC 95%: 9,6-19]. *C. felis* revelou uma prevalência de 5,4% (11/205) e *C. rivolta* 9,8% (19/205). Três amostras fecais demonstraram a presença *C. felis* e *C. rivolta*. Em 28 amostras positivas, 39,3% (11/28) apresentavam-se diarreicas.

**Figura 20** - *Cystoisospora* spp. A) *C. rivolta* não esporulado; B) *C. rivolta* esporulado; C) *C. felis* não esporulado; D) *C. felis* esporulado. (Originais).



A prevalência mais elevada observou-se no concelho de Guimarães, com 37% (20/54) das amostras positivas. O concelho com a segunda prevalência mais alta foi Viana do Castelo com 8,8% (6/68), seguido de Vila verde com 4,8% (1/21). Estes dados encontram-se reunidos na figura 21 e na tabela 15.

**Figura 21** – Distribuição das prevalências encontradas para *Cystoisospora* spp. nos concelhos estudados.



**Tabela 15** – Caracterização da prevalência de *Cystoisospora* spp., frequência e respetivos intervalos de confiança nos diferentes concelhos

Concelho	Prevalência/ Frequência	IC 95%
Amares	0% (0/6)	[0-39%]
Braga	0% (0/8)	[0-32,4%]
Guimarães	37% (20/54)	[25,4– 50,4%]
Ponte de Lima	0% (0/48)	[0-7,4%]
Viana do Castelo	10,3% (7/68)	[5,1- 19,8%]
Vila Verde	4,8% (1/21)	[0,8– 22,7%]

#### 3.5.2.3.4. Pesquisa de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp.

A pesquisa de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp, foi realizada através de esfregaço fecal corado através da técnica de Ziehl Neelsen modificado. Após o processamento e análise das 205 amostras fecais, não foram observados quistos de *Giardia* spp. ou oocistos de *Cryptosporidium* spp.

### 3.6. Análise estatística dos resultados

Relativamente ao parasita *Aelurostrongylus abstrusus*, foi possível verificar que existe uma associação estatisticamente significativa entre positividade de infeção e concelho de origem ( $X^2=24,211$ ; g.l.=5;  $p<0,001$ ) e distrito ( $X^2=13,7$ ; g.l.=1;  $p<0,001$ ). No entanto, o mesmo não se verificou para a presença de fezes diarreicas ( $X^2 =1$ ; g.l.=1;  $p=0,316$ ).

Nos parasitas gastrointestinais, *Toxocara cati* demonstrou a existência de associação estatisticamente significativa entre positividade de infeção e concelho de origem ( $X^2=13,1$ ; g.l.=5;  $p<0,05$ ), mas o mesmo não se observou para o distrito de origem ( $X^2=2,2$ ; g.l.=1;  $p=0,142$ ) e fezes diarreicas ( $X^2 =0,34$ ; g.l.=1;  $p=0,563$ ).

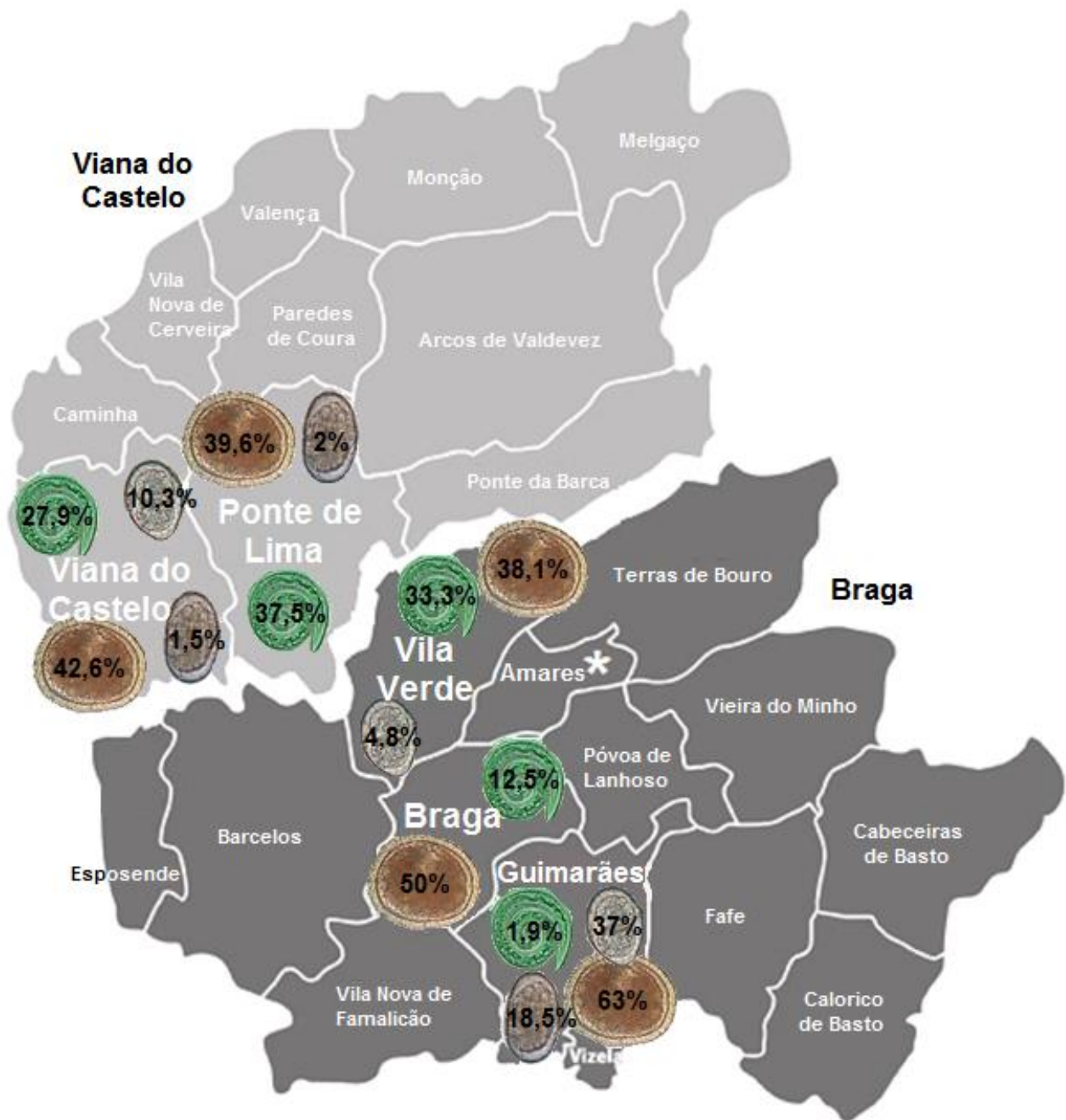
O mesmo não se verificou para os Ancilostomatídeos e *Cystoisospora* spp. Foi possível verificar que existe uma associação estatisticamente significativa entre positividade de infeção por Ancilostomatídeos e concelho de origem ( $X^2=21,5$ ; g.l.=5;  $p<0,001$ ) e distrito ( $X^2=8,3$ ; g.l.=1;  $p<0,01$ ). O mesmo comportamento é observado para *Cystoisospora* spp., em que foi possível verificar que existe uma associação estatisticamente significativa entre positividade de infeção e concelho ( $X^2=36,9$ ; g.l.=5;  $p<0,001$ ) e distrito ( $X^2=13,2$ ; g.l.=1;  $p<0,001$ ). Para ambas as espécies não se detetou associação entre fezes diarreicas e infeção por Ancilostomatídeos ( $X^2=3,8$ ; g.l.=1;  $p=0,0519$ ) e *Cystoisospora* spp. ( $X^2=2,7$ ; g.l.=1;  $p=0,141$ ).

Em suma, é possível observar que em todos os concelhos abrangidos foram observados parasitas, exceto no concelho de Amares (Fig. 22). *T. cati* foi o parasita mais observado em todos os concelhos. O segundo parasita mais observado foi *A. abstrusus*, registando-se em todos os concelhos exceto no concelho de Guimarães, cabendo esse lugar ao *Cystoisospora* sp. De salientar que Guimarães obteve a percentagem mais alta de *Cystoisospora* sp. (37%), *T. cati* (63%) e Ancilostomatídeos (18,5%). O concelho que obteve a percentagem mais elevada de *A. abstrusus* foi Ponte de Lima (37,5%)

Os parasitas menos observados variaram consoante o número de espécies parasitárias encontradas. Os Ancilostomatídeos foram os parasitas menos observados nos concelhos de Viana do Castelo e Ponte de Lima, fazendo com que esta família fosse a menos observada no distrito de Viana. No distrito de Braga, as formas parasitárias com menor prevalência variaram. No caso de Vila Verde, os parasitas menos observados foram *Cystoisospora* spp. No caso de Guimarães e Braga, o parasita menos observado foi *A. abstrusus*.



**Figura 22** - Distribuição e prevalência dos parasitas gastrointestinais e pulmonares detetados nos diferentes concelhos abrangidos pelo estudo.



**Legenda:**



\* Não foram detetadas quaisquer formas parasitárias no concelho de Amares

#### **4. Discussão**

O principal objetivo deste estudo foi determinar as parasitoses gastrointestinais e pulmonares existentes em felinos na região do Minho e a sua respetiva prevalência. Não é claro a razão pela qual existem poucos estudos desenvolvidos sobre parasitas gastro intestinais e pulmonares em felinos, tanto a nível Europeu como Nacional. Na zona de Lisboa, Duarte et al, (2010) e Waap et al, (2013) realizaram estudos em gatos errantes. Madeira de Carvalho et al, (2009) e Nabais (2012) estudaram a prevalência de *Aelurostrongylus abstrusus* em Lisboa e Payo-Puente et al, (2008) no Porto. Por último, Ferreira et al, (2011) realizaram um estudo em Évora com gatos particulares e de abrigo. É possível comprovar que os estudos realizados em Portugal são recentes, o que demonstra uma crescente preocupação por parte da comunidade médico-veterinária acerca desta temática. Tendo em conta esta escassez de dados epidemiológicos a nível nacional e a inexistência de dados a nível regional, este estudo pareceu-nos adequado e com o propósito de trazer novos dados sobre as parasitoses pulmonares e gastrointestinais dos gatos da região do Minho.

##### **4.1. Caracterização da amostra**

Neste estudo foram usadas 205 amostras fecais de gatos de abrigo e de gatos de particulares com acesso ao exterior, pertencentes aos distritos de Viana do Castelo e Braga.

É possível assumir que a grande parte dos animais pertencentes aos abrigos foram errantes durante algum tempo e possivelmente nunca receberam cuidados médicos veterinários adequados, entre os quais tratamento antiparasitário. Sendo assim, as amostras estudadas provinham de animais que apresentavam um risco e potencial enorme para a exposição e consequente infeção por parasitas gastrointestinais e pulmonares (Capári et al, 2013; Beugnet et al, 2014).

##### **4.2. Resultados Globais**

De acordo com os resultados do estudo, 63,9% (131/205) dos animais apresentaram pelo menos um parasita gastrointestinal ou pulmonar, sendo semelhantes aos resultados reportados em gatos errantes no Brasil (67,12%, Ramos Scheremeta, Oliveira, Sinkoc & Pacheco Rde, 2013).

Prevalências superiores às encontradas neste estudo foram demonstradas em vários estudos com gatos errantes em Portugal (90,7%, Waap et al, 2013), Espanha (Palma de Maiorca, 100%, Millán & Casanova, 2009), Argentina (100%, Sommerfelt et al, 2006), África do Sul (65%, Baker, Lange, Verster & Plaat, 1989) e Qatar (80,3%, Abu-Madi, Pal, Al-Thani, & Lewis, 2008).

Porém, prevalências inferiores foram reportadas na Alemanha (33,6%, Becker et al, 2012), Hungria (39,6%, Capári et al, 2013) e Itália (Centro 26,4%, Mugnaini et al, 2012; Centro 35% Riggio et al, 2013; Norte 50,4%, Spada et al, 2013).



As variações encontradas nas prevalências de endoparasitismo destacam a importância de situações epidemiológicas entre países devido a fatores climáticos, composição da população de gatos estudados, métodos de diagnóstico, frequência e eficácia dos tratamentos antiparasitários (Mugnaini et al, 2012). É importante referir que a colheita das amostras ocorreu no mês de Fevereiro, o que reduz a variedade num dos fatores biológicos essencial ao desenvolvimento dos parasitas, as condições ambientais.

O facto de uma grande parte dos animais incluídos no estudo possuírem acesso ao exterior, permite a existência de hábitos predatórios, e consequente consumo das presas. A maioria das associações não permite o contacto com o exterior, mas no caso particular da Associação A, existe a possibilidade de os felinos permanecerem com hábitos de caça, apesar de estarem confinados a um espaço restrito. O ato de predação é um comportamento natural, difícil se não impossível, de erradicar nos felinos. Este comportamento natural foi demonstrado por Adamec (1976), colocando numa mesma divisão um gato que estava a ser alimentado e um rato. Todos os gatos incluídos no estudo abandonavam o seu prato de comida para matar o rato e só depois voltavam a alimentar-se. Esta investigação demonstra que, para a maioria dos gatos, a predação resulta do instinto comportamental, não sendo motivado pela fome (Hutchings, 2003; Tennent & Downs, 2008;). Existem dispositivos no mercado que podem dificultar a concretização do ato de predação, como por exemplo guizos. Em alguns estudos sediados na Austrália não houve diferenças encontradas no sucesso de predação aquando colocação de guizos nas coleiras de felinos. No entanto, num estudo efetuado na Nova Zelândia houve uma redução de 50% e 61% na predação bem-sucedida de pássaros e mamíferos (Gordon, Mattahei & Van Heezik, 2010). É importante referir que estes dispositivos apenas permitem a redução no sucesso da predação, não sendo uma medida completamente eficaz.

Dos grupos de parasitas observados, o dos nemátodes foi o mais prevalente com 92,4%, seguido dos protozoários, com 21,4%. Outros autores confirmam esta prevalência relativa entre os diferentes grupos de parasitas dos felinos com estudos sediados em Itália (Riggio et al, 2013) e Roménia (Mircean et al, 2010). Contudo, num estudo efetuado em Évora (Ferreira et al, 2011) os protozoários foram os mais prevalentes comparativamente aos nemátodes. O resultado obtido no presente estudo pode estar relacionado com o facto de grande parte dos animais pertencerem a zonas rurais. Mircean et al. (2010) demonstraram que as infeções helmínticas são mais frequentes em zonas rurais (63,3%) do que em zonas urbanas (11,5%). Em zonas com bom manejo antiparasitário, as infeções por protozoários são mais frequentes do que as infeções helmínticas (Palmer, Thompson, Traub, Rees & Robertson, 2008), em parte porque os produtos antiparasitários atualmente disponíveis não são eficazes contra protozoários (Little et al, 2009).

Nos nemátodes existem alguns parasitas zoonóticos, como é o caso de *T. cati* e Ancilostomatídeos e os felinos portadores destes parasitas têm um papel importante como

reservatórios destas zoonoses. Deste modo, eles representam um problema importante em termos de saúde pública (Hille et al, 2014).

A ausência de céstodes poderá ser explicada pelas técnicas de diagnóstico usadas (Zajac & Conboy, 2012). Esta questão será melhor abordada no ponto 4.7 Céstodes.

#### **4.3. Resultados por concelho**

Neste estudo, os resultados globais de prevalência de parasitas gastrointestinais e pulmonares por concelho foram os seguintes: Guimarães 81,5% (44/54), Braga e Ponte de Lima 62,5% (5/8; 30/48), Viana do Castelo 58,8% (40/68), Vila Verde 57,2% (12/21) e Amares 0% (0/6).

De destacar que o concelho de Guimarães obteve a percentagem global mais elevada de todos os municípios (81,5%), sendo também o concelho que obteve a prevalência mais elevada de *T. cati* (63%), *Cystoisospora* spp. (37%) e Ancilostomatídeos (18,5%). Estas amostras fecais provieram da associação C. Para além de a maioria dos gatos ter tido um estilo de vida errante até à entrada no gatil, alguns fatores relacionados com a conceção do espaço e os materiais usados na construção do gatil podem explicar o elevado parasitismo. O pavimento do gatil era constituído por um material com pouca porosidade, sem capacidade absorvente, sem declive e sem possibilidade de escoamento. Juntamente com a falta de ventilação, estão reunidas características que combinadas criam um microclima com condições ambientais de elevada humidade, temperatura amena e sem exposição solar. Estas condições são propícias à sobrevivência de ovos de *T. cati*, L3 de Ancilostomatídeos e oocistos de *Cystoisospora* spp., havendo, consequentemente, perpetuação destas parasitoses (Bowman et al, 2002; Arbabi & Hooshyar, 2009).

No concelho de Amares nenhuma das técnicas efetuadas demonstrou a presença de formas parasitárias. Esta ausência pode estar relacionada com o baixo número de amostras analisadas (n=6) e o facto de o último tratamento parasitário ter sido realizado há pelo menos três meses.

McGlade et al, (2003) demonstraram que, por cada tratamento antihelmítico dado por ano, o risco de contrair uma infeção parasitária decresce 0,2 vezes, sendo que a administração regular de tratamento antiparasitário demonstrou uma diminuição significativa do risco de endoparasitismo em gatos. Matos, Alho, Owen, Nunes & Madeira de Carvalho (2015) através de um inquérito a proprietários de utentes do Hospital Escolar da FMV - UL reportou que 63,7% dos gatos eram desparasitados internamente, 60% dos quais 1-2 vezes/ano e de forma irregular. A periodicidade recomendada a nível europeu é trimestral, exceto se os animais forem sujeitos a controlo por exames coprológicos de rotina (ESCCAP, 2010). Sendo assim, é possível aferir que existe uma ligeira despreocupação dos donos em relação ao tratamento antiparasitário do seu gato de estimação. Despreocupação que também é visível neste estudo pois, como referido anteriormente, apenas os gatos provenientes do concelho de Amares

tinham o último tratamento antiparasitário efetuado há pelo menos 3 meses. É importante referir que os animais provenientes deste concelho eram acompanhados numa CAMV, sendo que este será um fator essencial para a educação e informação dos proprietários. Relativamente às associações estudadas, apenas a associação B desparasitava os animais interna e externamente à entrada do gatil.

#### **4.4. Nemátodes Pulmonares**

A técnica de Baermann foi a selecionada para deteção de larvas L1 de metastrongilídeos, por ser considerada a técnica *gold standard* (Willard et al, 1988), aliada ao facto de a sua execução ser simples, de baixo custo e de fácil interpretação. Quando a população estudada são gatos errantes e o método de exame é a necrópsia, são por norma reportadas prevalências mais elevadas (Hiepe et al, 1988; Knaus et al, 2011), mas este tipo de estudos é normalmente limitado pelo número de animais incluídos (Barutzki & Schaper, 2013).

A técnica de Baermann revelou uma prevalência global de 22,4% (46/205). Prevalências semelhantes foram verificadas no Porto, Portugal (17,4%, Payo-Puente et al, 2008) e noutros países como Croácia (22%, Grabaveric et al, 1999), Itália (18,5% na região Sul Traversa et al, 2008aa; 25,2% Sardenha, Tamponi et al, 2014) e Ilhas do Natal (25%, Adams, Elliot, Algar & Brazell, 2008). Prevalências superiores foram reportadas na Albânia (43,1%, Knaus et al, 2011).

Prevalências inferiores foram mencionadas em Portugal na zona da Grande Lisboa (11,8%, Waap et al, 2013; 12%, Nabais, 2012). Madeira de Carvalho et al (2009) indicou uma prevalência global de *A. abstrusus* de 1,5% no período de 1999-2000. Quando comparado com resultados mais recentes, verificamos que houve um aumento da prevalência deste parasita nos últimos anos. Em relação a outros países, prevalências menores foram reportadas em Espanha numa população mista de gatos (1% Miró et al, 2004), Alemanha (5,6%, Taubert et al, 2009; 6,6% Barutzki & Schaper, 2013) e Holanda (2,6%, Robben et al, 2004).

Foi possível verificar, neste estudo, uma associação estatisticamente significativa entre a origem da amostra e a positividade à infeção por *A. abstrusus*. O distrito que apresentou uma maior prevalência de *A. abstrusus* foi Viana do Castelo com 31,9% (37/116), enquanto o distrito de Braga apenas apresentou 10,1% (9/89). A nível municipal foi observado uma prevalência de 37,5% em Ponte de Lima, 27,9% em Viana do Castelo, 33,3% em Vila Verde, 12,5% em Braga e 1,9% em Guimarães. A ausência de L1 no município de Amares está provavelmente relacionada com o baixo número de amostras analisadas. Num estudo conduzido por Beugnet et al, (2014) que incluiu vários países europeus, foi estatisticamente comprovado que gatos de Nápoles (9,3% positivos) estavam significativamente mais infetados por *A. abstrusus* em comparação com gatos de Budapeste (3,3% positivos). No entanto, no mesmo estudo, o autor não encontrou diferenças entre os gatos de Bari (1,7% positivos) e de

Cluj-Napoca, Roménia (3,7% positivos). Estes dados sugerem que possam existir zonas geográficas mais aptas para a ocorrência destas parasitoses (Traversa et al, 2008b, 2010).

Quando comparamos os resultados obtidos no Norte do País, com os obtidos na zona de Lisboa, é notória a discrepância entre os resultados. Esta diferença pode estar associada a diferenças climáticas. O norte do País apresenta um clima temperado mediterrâneo com influência Atlântica, tendo como características principais as temperaturas médias amenas e precipitação abundante ao longo de todo o ano (Payo-Puente, 2008). Segundo o boletim climatológico sazonal Inverno 2015/16 do IPMA, entre os meses de Outubro de 2015 a Fevereiro de 2016, a zona do Minho foi uma das zonas que apresentou uma maior precipitação total em todo o território nacional.

As condições climáticas que o Norte do País apresenta, mais concretamente a zona do Minho, são favoráveis à abundância de HI moluscos (caracóis e lesmas), que se concentram em áreas geográficas húmidas (Ferdushi & Hansan, 2010), sendo este um dos requisitos essenciais para a existência de uma área endémica (Traversa et al, 200b, 2010). Tolnai, Széll & Sréter (2015) concluíram no seu estudo sobre metastrongilídeos dos cães que as condições ambientais são determinantes para a distribuição espacial de *Angiostrongylus vasorum* e *Crenosoma vulpis*, existindo uma relação positiva com a precipitação anual e negativa com a temperatura média anual. Segundo estes autores, esta relação pode ser atribuída à sensibilidade das larvas e HI à dessecação. Apesar de não serem as espécies parasitárias em estudo, parece ser possível extrapolar os dados obtidos por estes autores para a espécie *A. abstrusus*, visto que são parasitas da mesma família e o seu modo de infeção ocorre de forma semelhante.

O fato de as colheitas terem sido efetuadas no mês de Fevereiro (final de Inverno) pode também ajudar a explicar a elevada prevalência obtida. Barutzki & Schaper (2012) compararam o número de amostras positivas de *A. abstrusus* no Verão e Inverno, demonstrando que a maior prevalência de infeções observadas no Inverno é estatisticamente significativa ( $p=0,0027$ ). No entanto, Taubert et al, (2009) reportaram a existência de um padrão sazonal semelhante ao indicado por Barutzki & Schaper (2012), embora este não fosse estatisticamente significativo.

Existem bastantes fatores de risco, apontados por outros autores, que foram identificados na população felina alvo deste estudo. Nomeadamente o tipo de população e estilo de vida (animais de abrigo, que outrora foram errantes e animais com acesso ao exterior) (Traversa et al, 2008b; Beugnet et al, 2014) e a existência de sinais clínicos respiratória (Traversa et al, 2008b; Di Cesare et al, 2015).

O município que apresentou uma maior prevalência de *A. abstrusus* foi Ponte de Lima (37,5%). As amostras de Ponte de Lima provieram da associação A, em que era frequente o aparecimento de pássaros e pequenos roedores mortos dentro do gatil, que entravam através da rede e provavelmente eram caçados pelos gatos. Durante a colheita foi possível observar

uma carapaça parcial de caracol. Estes dois factos confirmam a possibilidade de entrada de HP e HI, respetivamente. As associações B, C e D não permitiam a entrada e saída de HI, por serem espaços fechados. No entanto, na associação B e C foram detetados 14 e 1 amostras positivas para *A. abstrusus*, respetivamente, sendo possível presumir que a infeção ocorreu antes da entrada no gatil. Os gatos de particulares possuíam acesso ao exterior, o que possibilitava hábitos de predação. Um estudo conduzido por Traversa et al, (2008b) indicou que existe uma associação estatisticamente significativa entre o acesso exterior e a positividade à infeção por *A. abstrusus*, onde dos 40 gatos infetados por este nemátode, 38 possuíam acesso ao exterior.

Foi possível a audição de sinais respiratórios, como tosse, espirros e dispneia durante a colheita de amostras na associação A, B e C. No entanto, devido a limitações logísticas, não foi possível corresponder as fezes ao animal, o que impossibilita correlacionar amostras positivas à existência de sinais respiratórios. Alguns autores indicam que existe uma relação entre a existência de sinais respiratórios e infeção por *A. abstrusus* (Di Cesare et al, 2015). No entanto, alguns autores relatam a possibilidade de animais aparentemente saudáveis estarem infetados por este metastrongilídeo (Traversa et al, 2008a,b). Apenas uma associação reportou a existência de sinais respiratórios e poucos foram os animais que demonstraram esses mesmos sinais. Tendo em conta o número de amostras positivas (n=46) é sensato considerar que existiriam animais sem sinais respiratórios, sendo que esta ausência pode ser explicada pela baixa carga parasitária ou devido a infeção recente (Lautenslauger, 1976).

#### **4.5. Nemátodes Gastrointestinais**

A pesquisa de nemátodes gastrointestinais foi efetuada pelo método de flutuação passiva (Willis) e sedimentação natural. Com base nestas técnicas, 52,7% (108/205) das amostras foram positivas para pelo menos um parasita gastrointestinal. Valores semelhantes foram reportados na Grécia (55,8%, Lefkaditis et al, 2014) e inferiores foram mencionados em Évora (39,2%, Ferreira et al, 2011) e Lisboa (23,1%, Duarte et al, 2010).

Relativamente ao parasita *T. cati*, o valor detetado neste estudo foi de 45,9% (94/205) e valores semelhantes foram encontrados em Mönchengladbach, Alemanha (43,3%, Hecking-Veltman, Tenter & Daugschies, 2001) e no Irão (Norte - 44% Sharif et al, 2007; Sudoeste - 45%, Khademvatan et al, 2014).

Prevalências superiores de *T. cati* foram reportadas em estudos efetuados em Dinamarca (79%, Engbaek, Madsen & Larsen, 1984), Espanha (55,2%, Calvete et al, 1998), Índia (59,3%, Borthakur & Mukharjee, 2011) e Itália (58,3%, Mugnaini et al, 2012).

Prevalências inferiores foram mencionadas em Lisboa (7,8% - 3,3%, entre 1994 e 2002, Madeira de Carvalho et al, 2005; 13,6%, Vaz et al, 2005; 10,8%, Duarte et al, 2010; 38,3%, Waap et al, 2013), Évora (10%, Ferreira et al, 2011), Alemanha (Norte - 27,1%, Becker et al.

2012), Grécia (18,14%, Lefkaditis et al. 2014), Espanha (35%, Millan & Casanova, 2009), Finlândia (5,4%, Näreaho et al, 2012), Inglaterra (34,8%, Nichol, Ball & Snow, 1981), Itália (22,2%, Riggio et al, 2013; Norte 33,1%, Spada et al, 2013) e Roménia (20,3%, Mircean et al, 2010).

Das espécies identificadas neste estudo, *T. cati* representa a maior ameaça para a saúde pública (Bowman et al, 2002). Num estudo epidemiológico efectuado em humanos em Portugal, um total de 513 indivíduos em Santa Maria da Feira, Porto, Norte (Tavares, Garrido, Geraldès, Tavares & Faria, 1998) revelou uma prevalência de 17,7% de toxocarose em humanos. A toxocaríase é sub diagnosticada em humanos, devido ao deficiente conhecimento a que a classe médica e outros técnicos de saúde possuem sobre esta parasitose (Tavares et al, 1998). A par da sensibilização da comunidade médica para esta temática, o controlo profilático em todos os animais deve ser uma das medidas a tomar, em especial nos juvenis, com correta eliminação das suas fezes e evitando que estes ingiram HP (Schmidt & Roberts, 2008).

Ambos os distritos tiveram a mesma prevalência de *T. cati* (51,7%). A nível municipal, os valores obtidos foram de 63% (34/54) em Guimarães, 50% (4/8) em Braga, 42,6% (29/68) em Viana do Castelo, 39,6% (19/48) em Ponte de Lima, 38,1% (8/21) em Vila Verde e 0% (0/6) em Amares.

Os gatos mais jovens são mais frequentemente afetados, segundo alguns autores (Capári et al, 2013; Beugnet et al, 2014). No entanto, a imunidade adquirida pode ser inexistente ou limitada quando a infeção é adquirida através da predação (Schaper et al, 2007). Neste estudo, todos os animais aparentavam ser adultos, ou jovens adultos e tal facto não impediu a existência de uma elevada prevalência de *T. cati*. Apesar de ser mais frequente em gatos mais jovens, os médicos veterinários não devem excluir esta parasitose em animais mais velhos (Beugnet et al, 2014) porque este parasita circula na população de gatos, não apenas pela transmissão durante a lactação, mas também pela persistência dos ovos no meio ambiente e através de HP (Traversa, 2012).

As condições climáticas desempenham um papel importante na manutenção da capacidade infetante dos ovos de *Toxocara* spp. O facto de os gatos enterrarem as suas próprias fezes, protege os ovos da dessecação (Uga, Miname & Nagata, 1996) e a presença de elevada humidade relativa e temperaturas moderadas também poderão explicar a elevada prevalência observada (Arbabi & Hooshyar, 2009). Barutzki & Schaper (2011) reportaram uma dinâmica sazonal associada a positividade de *T. cati*, em que prevalências mais elevadas foram encontradas nos meses de Novembro a Janeiro. A importância dos fatores climáticos é demonstrada pelas baixas prevalências encontradas em zonas áridas como Qatar (6,1%, Baker et al, 1989), Austrália (3,2%, Palmer, et al, 2008b) e México (3%, Canto et al, 2013).

Outro fator para a ocorrência comum de *T. cati* pode ser atribuída à existência HP, como roedores e outros invertebrados (Adams et al, 2008) que podem fazer parte da dieta de gatos

errantes ou com acesso ao exterior. Tais fatores foram demonstrados por Beugnet et al, (2014) e Mircean et al, (2010). No estudo conduzido por o último autor, gatos sem acesso ao exterior obtiveram uma prevalência de 4,6% e os gatos com acesso exterior 29,4%, ( $p < 0,01$ ). A infecção é possível sem acesso exterior, ocorrendo através do contacto de sapatos contendo ovos *T. cati* dos proprietários (Overgaauw et al, 2009). Apesar de os gatos de abrigo não possuírem acesso ao exterior, no caso da Associação A há a possibilidade de os HI se deslocarem até ao gatil. A existência de ovos *T. cati* em abrigos sem acesso ao exterior pode ser explicada pela ocorrência da infecção antes de serem integrados no gatil. No caso de amostras fecais provenientes de particulares, todos possuíam acesso ao exterior, possibilitando hábitos de predação.

Neste estudo não foi encontrada uma associação estatisticamente significativa entre a presença de fezes diarreicas e infecção por *T. cati*. Mekaru et al, (2007) reportaram que a prevalência de *Toxocara cati* era semelhante em gatos com fezes diarreicas e não diarreicas, indicando que a presença deste sinal clínico não é um indicador fiável para prever se o animal está ativamente a excretar ovos.

Tendo estes fatores de risco em conta, as razões para esta grande prevalência de *T. cati* neste estudo pode dever-se a falta de tratamento anti parasitário, sobrepopulação dos gatis (Beugnet et al, 2014), condições climáticas favoráveis à sobrevivência dos ovos como elevada humidade e temperaturas moderadas (Arbabi & Hooshyar, 2009) e acesso ao exterior e posterior ingestão de HP (Adams et al, 2008).

Em 205 amostras fecais analisadas não foram detetados ovos de *Toxascaris leonina*. Este parasita também não foi detetado por Waap et al, (2013) em Lisboa e por Ferreira et al, (2011) em Évora. Outros estudos com valores semelhantes foram reportados na Finlândia (0,2%, Näreaho et al, 2012) e Alemanha (0,1%, Barutzki & Schaper, 2011). O único estudo em Portugal que detetou a presença de *Toxascaris leonina* foi efetuado por Duarte et al. (2010) em Lisboa com um valor de 1,4%. Valores superiores foram reportados na Hungria (7,2%, Capári et al, 2013) e Polónia (10%, Ładczuk & Balicka-Ramisz, 2010).

O valor global detetado neste estudo para ovos de Ancilostomatídeos foi de 5,9%, sendo que este valor é semelhante ao reportado em Barcelona, Espanha (4,0%, Gracenea, Soledad, Gómez & Torres, 2009) em gatos de abrigo. Valores superiores foram encontrados em Lisboa (19,1%, Waap et al, 2013), Albânia (44,4%, Knaus et al, 2011), Espanha (29%, Calvete et al, 1998; 91%, Millán & Casanova, 2009), Grécia (11,63%, Lefkaditis et al, 2014), Itália (Norte – 7,2%, Spada et al, 2013) e Roménia (10,1%, Mircean et al, 2010). Valores inferiores foram reportados na Alemanha (2,2%, Barutzki & Schaper, 2011; 1,1% Becker et al, 2012).

Apesar de a prevalência de Ancilostomatídeos ter sido baixa ou nula em quase todos os concelhos, uma prevalência de 18,5% (10/54) foi verificada no concelho de Guimarães, na associação C. Como já referido anteriormente, a conceção do espaço do abrigo poderá ter criado as condições ideais para a sobrevivência das L3 de *A. tubaeforme*, que são

temperaturas ambientais entre 23 e 30°C e zonas húmidas (Bowman et al, 2002). As colheitas foram efetuadas no mês de Fevereiro, não sendo uma altura do ano favorável para o desenvolvimento das L3 infetantes, devido à temperatura ambiental. Tendo em conta que, segundo dados fornecidos pelo AccuWeather (plataforma digital que fornece informação meteorológica), a temperatura máxima registada no mês de Fevereiro em Braga e Viana do Castelo foi de 17°C, o baixo valor detetado para Ancilostomatídeos pode ser explicado pelas condições ambientais adversas.

#### **4.6. Protozoários Gastrointestinais**

Gatos que vivam em gatis ou em situações de densidade populacional estão em maior risco de adquirir infeções por protozoários, que são transmitidos diretamente como *Giardia* spp., *Cryptosporidium* spp. e *Cystoisospora* spp. (ESCCAP 2011). Existem outros fatores de risco apontados por outros autores, como por exemplo gatos jovens (Mircean et al, 2010) e que pertencem a zonas urbanas (Ferreira et al, 2011).

O valor detetado neste estudo para *Cystoisospora* spp foi de 13,7% (28/205), de *C. felis* (5,4%) e *C. rivolta* (9,8%). Valores semelhantes aos encontrados neste estudo foram encontrados em Lisboa (*C. felis* 5,4%, Duarte et al, 2010), na Albânia (*C. felis* 5,6% e *C. rivolta* 11,1%, Kanus et al, 2011) e na Roménia (*C. felis* 5,3% e *C. rivolta* 8,9%, Mircean et al, 2010).

Valores superiores foram detetados em Lisboa (46,3% *C. rivolta*, Waap et al, 2013), em Itália (Central, *C. felis* 19,4%, Mugnaini et al, 2012). Valores inferiores aos encontrados neste estudo foram reportados em Évora (5%, Ferreira et al, 2011), na Hungria (4,3%, Capári et al, 2013), na Alemanha (*C. felis* 4,4% e *C. rivolta* 2,2%, Barutzki & Schaper, 2011), Itália (4,5%, Riggio et al, 2013).

*Cystoisospora* spp. foi detetado nos concelhos de Vila Verde (4,8%), Viana do Castelo (10,3%) e Guimarães (37%). Não foi detetado nos concelhos de Amares, Braga e Ponte de Lima. Este parasita está presente em todo o mundo, mas as maiores prevalências são observadas em situações de sobrepopulação (ESCCAP 2011), como foi possível observar nas amostras da associação C provenientes de Guimarães. Para além da sobrepopulação, a dificuldade em manter o pavimento seco pode ser um fator que potencializa a sobrevivência dos oocistos de *Cystoisospora* spp. (ESCCAP, 2011), como foi já previamente explicado.

Mekaru et al, (2007) reportaram que a prevalência de *Cystoisospora* spp. era semelhante em gatos com fezes diarreicas e não diarreicas, indicando que a presença de diarreia não é um sinal clínico que possa ser usado para prever se o animal está ativamente a excretar oocistos. Estes resultados estão em concordância com os resultados encontrados neste estudo, pois não foi assinalada uma associação estatisticamente significativa entre a positividade de infeção por *Cystoisospora* spp. e fezes diarreicas.

Existem alguns fatores de risco que apesar não serem fatores associados à população felina alvo deste estudo são dignos de registo, nomeadamente a idade jovem e a época do ano. Em



alguns estudos foi observado uma maior prevalência estatisticamente significativa em animais jovens (Mircean et al, 2010; Barutzki & Schaper, 2011; Abdou, Al-Batel, El-Azazy, Sami & Majeed, 2013; Capári et al. 2013). Barutzki & Schaper (2011) reportaram um padrão sazonal na excreção de oocistos de *Cystoisospora* spp., sendo que a maioria dos animais positivos foi detetada entre Agosto e Novembro. A razão para este fenómeno ainda não é clara, mas também foi descrita por Batchelor et al, (2008) para *Cystoisospora canis*.

No presente estudo não foram observadas amostras com quistos de *Giardia* spp. e oocistos de *Cryptosporidium* spp. nas 205 amostras fecais analisadas. O método utilizado foi o esfregaço corado por Ziehl Neelsen modificado, sendo o método de eleição para a identificação de oocistos de *Cryptosporidium* spp., aparecendo como pequenas esferas com cor vermelha ou alaranjada (ESCCAP, 2011). Apesar de através desta técnica a sensibilidade para o diagnóstico de *Giardia* spp. atingir apenas os 81,5%, esta foi a técnica escolhida pela possibilidade de detetar ambos os parasitas, *Cryptosporidium* spp. e *Giardia* spp. (Fernandes, 2012).

A inconsistência da excreção de quistos e oocistos está bem documentada, reforçando a importância da realização da análise de amostras fecais seriadas para o diagnóstico de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. (Marks, Hanson & Melli, 2004; Dryden et al, 2006). Visto que neste estudo apenas foram realizadas análises correspondentes a um dia, esta poderá ser uma das razões pela ausência de amostras positivas.

Dos estudos realizados em Portugal, apenas Ferreira et al, (2011) em Évora reportou dois gatos infetados com *Giardia* spp. pertencentes à assemblage A. Ficou assim documentada a existência de assemblages zoonóticas nos gatos em Portugal, nomeadamente na população felina de Évora.

Valores semelhantes para *Giardia* foram detetados através de exame coprológico, por Mircean et al, (2012) e Becker et al, (2012) que reportaram 1% de prevalência. Os últimos autores testaram as mesmas amostras através de coproantígenos, e detetaram uma prevalência de 6.8%. Outros estudos que usaram um teste de ELISA com coproantígenos, revelaram prevalências superiores às encontradas neste estudo na Alemanha (12,6%, Barutzki & Schaper, 2011) e Hungria (37,4%, Capári et al, 2013). Alguns estudos em Itália recorreram a testes moleculares (PCR) (7,5%, Mancianti et al, 2015; 6,1%, Paoletti et al, 2011).

A prevalência de *Giardia* spp. em animais de companhia não é consistente entre estudos, em parte devido à sensibilidade dos testes de diagnóstico usado e ao número de amostras analisadas, devido à excreção intermitente (Thompson et al, 2008). Um estudo conduzido por McGlade et al, (2003) em 40 gatos domésticos, detetou uma prevalência de 80% através de técnicas moleculares (PCR), mas apenas duas amostras positivas (5%) através do método de flutuação com sulfato de zinco.

Existe evidência que suporta a suscetibilidade de gatos mais novos às infecções por *Giardia* (Tzannes et al, 2008; Ballweber et al, 2010; Barutzki & Schaper, 2013). Visto que nenhum dos animais presentes no gatil aparentava ter menos que 6 meses, isto pode ser uma explicação para o valor encontrado neste estudo. No entanto Gookin et al, (2004) não descobriu diferenças na idade em gatos infetados com *Giardia* spp.

Alguns estudos efetuados nos EUA e na Argentina, identificaram um padrão sazonal na infecção por *Giardia* spp., havendo um pico de infecção no inverno (Ballweber et al., 2010), mas tal padrão não foi identificado em estudos desenvolvidos em gatos na Europa (Tzannes et al, 2008).

Relativamente a *Cryptosporidium* sp., valores semelhantes foram detetados na Turquia (0% em fezes diarreicas, Spada et al, 2013) e em Itália (0%, Paoletti et al, 2011). Prevalências superiores foram detetadas em Itália (2%, Mancianti et al, 2015; Central) e Holanda (4,6%, Overgaauw et al, 2009). A ausência de *Cryptosporidium* sp. neste estudo não é surpreendente, considerando o carácter esporádico da doença em felinos (Gow et al, 2009).

Tendo em conta o número de amostras colhidas por animal, o carácter intermitente de excreção destas parasitoses e as limitações do método de diagnóstico escolhido para *Giardia* (Marks et al, 2004; Dryden et al, 2006; Fernandes, 2012), é sensato considerar que a prevalência de *Giardia* spp. e *Cryptosporidium* spp. seja superior.

#### **4.7. Céstodes**

Neste estudo não foram identificadas formas parasitárias de céstodes em 205 amostras fecais analisadas. Esta ausência não significa que não existam estes parasitas na região do Minho, visto que os métodos coprológicos subestimam a prevalência de céstodes (Bordeau e Beugnet, 1993). Em Portugal, Lisboa, Waap et al, (2013) num estudo com 162 gatos errantes detetaram 3,1% de *Taenia taeniaeformis* e 53,1% de *D. caninum*. Na mesma cidade, Duarte et al, 2010 detetaram 1,4% de *D. caninum* através de 231 amostras fecais de gatos de abrigos. Esta discrepância de valores para dois estudos na mesma cidade e com o mesmo tipo de população de gatos pode ser devida ao método de diagnóstico usado, visto que os primeiros autores utilizaram a necrópsia como método para pesquisa das várias parasitoses, enquanto Duarte et al, (2010) recorreram a técnicas coprológicas.

Valores semelhantes ao detetados neste estudo foram reportados na Roménia (*D. caninum* 0,2%, Mircean et al, 2010).

Valores superiores referidos no presente estudo foram reportados na Grécia (*Taenia taeniaeformis* 8,37 %, *D. caninum* 39,53% Lefkaditis et al. 2014) e Itália (2,9% *D. caninum*, Riggio et al, 2013)

Abu-Madi, Behnke, Prabhaker, Al.Ibrahim & Lewis (2010) reportaram uma prevalência de 97% de céstodes em gatos errantes no Quatar. Os autores sugerem que condições climáticas consideradas menos favoráveis, como por exemplo temperatura elevada e baixos níveis de

precipitação, mostram-se favoráveis para os céstodes, atendendo à sua elevada prevalência.

## V. CONCLUSÃO

O rastreio coprológico efetuado em felinos na zona do Minho procurou colmatar a inexistência de registos parasitológicos a nível regional na região do Minho e complementar a atual situação epidemiológica em Portugal.

Entre as 205 amostras fecais colhidas nos distritos de Braga e Viana do Castelo, 63,9% (131/205) estavam infetadas com, pelo menos, uma forma parasitária. Os resultados obtidos foram 45,9% para *T. cati*, 22,4% para *A. abstrusus*, 9,8% para *C. rivolta*, 5,9% para *Ancylostomatidae*, 5,4% para *Cystoisospora felis*.

Esta avaliação e caracterização parasitológica dos distritos de Viana do Castelo e Braga permitiu demonstrar a variedade parasitária gastrointestinal e cardiopulmonar existente nos felinos, reportando a existência de parasitas com potencial zoonótico, como *T. cati*, e com importância clínica para a saúde animal, como *A. abstrusus*. Os resultados deste estudo sublinham a necessidade de adotar estratégias preventivas e de controlo para agentes parasitários em felinos domésticos na região do Minho.

Os valores que parecem importantes salientar são a elevada prevalência de *T. cati* e *A. abstrusus*. A elevada prevalência do parasita *T. cati* poderá ser explicada pela sobrepopulação observada nos abrigos estudados, acesso a HP, condições de temperatura e humidade propícias para a manutenção da capacidade infetante dos ovos e falta de medidas profiláticas antiparasitárias regulares.

A prevalência de *A. abstrusus* (22,4%) vem salientar a informação já existente, mas esquecida, de que este parasita é endémico na região Norte de Portugal. Este valor poderá ser explicado pelas condições climáticas características da região do Minho observadas no mês de recolha, favoráveis ao desenvolvimento e abundância de HI moluscos. O risco de infeção é, deste modo, potencializado, podendo ser concretizado em populações de risco, como gatos errantes ou gatos com acesso ao exterior. Deste modo, os médicos veterinários da região Norte devem incluir no topo da sua lista de diagnósticos diferenciais a Aelurostrongilose em gatos que apresentem sinais respiratórios.

De futuro, é importante continuar este tipo de estudos em felinos, idealmente em áreas geográficas de Portugal para os quais ainda não existem estudos efetuados, de modo a expandir o conhecimento nas parasitoses existentes.

Com este estudo, espera-se que ter contribuído para a compreensão da situação epidemiológica destes parasitas nos felinos domésticos da região do Minho e em Portugal. Fica deste modo demonstrado que a interação entre parasita, HI e condições climáticas desempenha um papel fundamental na exposição e aumento do risco de infeção por alguns dos principais parasitas dos felinos domésticos.

## VI. BIBLIOGRAFIA

- Abdou, N. E., Al-Batel, M. K., El-Azazy, O. M., Sami A. M. & Majeed, Q. A. (2013). Enteric protozoan parasites in stray cats in Kuwait with special references to toxoplasmosis and risk factors affecting its occurrence. *Journal of the Egyptian Society of Parasitology*, 43(2), 303-14.
- Abu-Madi, M. A., Pal, P., Al-Thani, A. & Lewis, J.W. (2008). Descriptive epidemiology of intestinal helminth parasites from stray cat populations in Qatar. *Journal of Helminthology*, 82(1), 59–68.
- Abu-Madi, M. A., Behnke, J. M., Prabhaker, K. S., Al-Ibrahim, R., Lewis, J. W. (2010). Intestinal helminths of feral cat populations from urban and suburban districts of Qatar. *Veterinary Parasitology*, 168, 284-292.
- AccuWeather (2016). *Metereologia referente ao mês de Fevereiro em Braga, Portugal*. Acedido em Mar, 28, 2016. Disponível em: <http://www.accuweather.com/pt/pt/braga/272363/februaryweather/272363?monyr=2/1/2016>
- AccuWeather (2016). *Metereologia referente ao mês de Fevereiro em Viana do Castelo, Portugal*. Acedido em Mar, 28, 2016. Disponível em: <http://www.accuweather.com/pt/pt/viana-do-castelo/276247/may-weather/276247>
- Adamec, R. E. (1976). The interaction of hunger and preying in the domestic cat (*Felis catus*): An adaptive hierarchy? *Behaviour Biology*, 18, 263–272.
- Adams, P. J., Elliot, A. D., Algar, D., Brazell, R. I. (2008). Gastrointestinal parasites of feral cats from Christmas Island. *Australian Veterinary Journal*, 86(1), 60–63.
- Alho, A. M., Nabais, J. & Carvalho, L. M. (2013). A importância da técnica de baermann na clínica de pequenos animais. *Clínica Animal*, 1(3), 28 – 31.
- Anderson, R. C. (2000). *Nematode Parasites of Vertebrates. Their Development and Transmission*. (2<sup>nd</sup> ed.). Wallingford, United Kingdom: CABI Publishing.
- Aoki, S., Yamagami, T., Saeki, H. & Washizu, M. (1990). Perforated gastric ulcer caused by *Toxocara cati* in a cat. *Journal of Japan Veterinary Medicine Association*, 43, 207–210.
- Arbabi, M. & Hooshyar, H. (2009). Gastrointestinal parasites of stray cats in Kashan, Iran. *Tropical Biomedicine*, 26(1), 16–22.
- Araujo, P. (1972). Observações pertinentes as primeiras ecdises de larvas de *Ascaris lumbricoides*, *A. suum* e *Toxocara canis*. *Revista do Instituto de Medicina Tropical de São Paulo*, 14(2), 83-90.
- Asahi, H., Koyama, T., Arai, H., Funakoshi, Y., Yamaura, H., Shirasaka, R. & Okutomi, K. (1991). Biological nature of *Cryptosporidium* sp. isolated from a cat. *Parasitology Research*, 77, 237–240.
- Baker, M. K., Lange, L., Verster, A. & Plaat, S. (1989). A survey of helminths in domestic cats in the Pretoria area of Transvaal, Republic of South Africa: The prevalence and comparison of burdens of helminths in adult and juvenile cats. *Journal of South Africa Veterinary Association*, 60(3), 139–142.

- Ballweber, L. R. (2001). *The Practical Veterinarian - Veterinary Parasitology*. Massachusetts, USA: Butterworth-Heinemann.
- Ballweber, L.R., Xiao, L., Bowman, D.D., Kanh, G. & Cama, V.A. (2010). Giardiasis in dogs and cats: update on epidemiology and public health significance. *Trends in Parasitology*, 26 (4), 180-189.
- Bank, R. A. (2011). *Fauna Europaea Projet: Checklist of the land and freshwater Gastropoda of the Iberian peninsula (Spain, Portugal, Andorra, Gibraltar)*. Acedido em Out. 6, 2015, disponível em: [http://www.nmbe.ch/sites/default/files/uploads/pubinv/fauna\\_europaea\\_-\\_gastropoda\\_of\\_iberian\\_peninsula.pdf](http://www.nmbe.ch/sites/default/files/uploads/pubinv/fauna_europaea_-_gastropoda_of_iberian_peninsula.pdf)
- Baños, P.D., Baños, N.D. & Morondo-Pelayo, M.P. (1999). Nematodosis: Toxocariosis, Toxascariosis, Ancilostomosis, Tricuriosis, Estrongiloidosis, Espirocercosis, Olulanosis. In Cordero del Campillo M., Rojo Vazquez F.A., Martinez Fernandez, A.R., Sanchez Acedo, M.C., Hernandez Rodriguez, S., Navarrete Lopez-Cozar, I., Diez Banos, P., Quiroz Romero, H., Carvalho Varela, M. (Eds.). *Parasitologia Veterinaria*. Madrid: McGraw-Hill-Interamericana de Espana, S.A.U.
- Barr, S.C. (2006). Enteric protozoal infetions. In: Greene, C. E. (Ed.), *Infetious Diseases of the Dog and Cat*. (3<sup>rd</sup> ed.). St Louis: Saunders Elsevier
- Barreto, J. F. & Almeida, J. L. (1937). Primeiras observações sobre a presença de *Isospora felis* Wenyon, 1923 (Protozoa- Eimeridia) em felídeos no Brasil. *Boletim da Sociedade Brasileira de Medicina Veterinária*, 8, 357-360.
- Barrs V. R., Swinney, G. R., Martin, P. & Nicoll, R. G. (1999). Concurrent *Aelurostrongylus abstrusus* infetion and salmonellosis in a kitten. *Australian Veteterinary Journal*, 77, 229–232.
- Barutzki, D., & Schaper, R. (2011). Results of Parasitological Examinations of Faecal Samples from Cats and Dogs in Germany between 2003 and 2010. *Parasitology Research*, 109, 45-60.
- Barutzki, D. & Schaper, R. (2013). Occurrence and regional distribution of *Aelurostrongylus abstrusus* in cats in Germany. *Parasitology Research*, 112, 855–861.
- Batchelor, D. J., Tzannes, S., Graham, P. A., Wastling, J. M., Pinchbeck, G.L. & German, A. J. (2008). Detetion of endoparasites with zoonotic potential in dogs with gastrointestinal disease in the UK. *Transboundary and Emergency Diseases*, 55, 99–104.
- Becker, A. C., Rohen, M., Epe, C. & Schnieder, T. (2012). Prevalence of endoparasites in stray and forested dogs and cats in Northern Germany. *Parasitology Research*, 111, 849-857.
- Beser, J., Toresson, L., Eitrem, R., Troell K., Winiacka-Krusnell, J. & Lebbad, M. (2015). Possible zoonotic transmission of *Cryptosporidium felis* in a household. *Infetion Ecology and Epidemiology*, 5:28463.
- Beugnet, F., Bourdeau, P., Chalvet-Monfray, K., Cozma, V., Farkas, R., Guillot, J., Halos, L., Joachim, A., Losson, B., Miró, G., Otranto, D., Renaud, M. & Rinaldi, L. (2014). Parasites of domestic owned cats in Europe: co-infestations and risk fators. *Parasites & Vetors*, 7, 291-304.

- Boreham, R. E., Boreham, P. F. L. (1990). *Dipylidium caninum*: life cycle, epizootiology, and control. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinary*, 12(5), 667–676.
- Borthakur, S. K., Mukharjee, S. N. (2011). Gastrointestinal helminths in stray cats (*Felis catus*) from Aizawl, Mizoram, India. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 42: 255 – 258.
- Bourdeau, P. (1993). L'aelurostrongylose féline. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 169, 409–414.
- Bourdeau, P. & Beugnet, F. (1993). Téniasis des carnivores domestiques. *Recueil de Médecine Vétérinaire*, 169, 353 – 368.
- Bowman, D., Hendrix, C., Lindsay, D. & Barr, S. (2002). *Feline Clinical Parasitology*. (2<sup>nd</sup> ed.). Ames: Iowa State University Press.
- Bowman, D.D. (2014). *Georgis' Parasitology for Veterinarians*. (10<sup>th</sup> ed.). St. Louis, Missouri: Elsevier Saunders.
- Brianti, E., Gaglio, G., Giannetto, S., Annoscia, G., Latrofa, M. S., Dantas-Torres, F., Traversa, D. & Otranto, D. (2012). *Troglostrongylus brevior* and *Troglostrongylus subcrenatus* (Strongylida: Crenosomatidae) as agents of broncho-pulmonary infestation in domestic cats. *Parasites & Vectors*, 5, 178 – 190.
- Brianti, E., Giannetto, S., Dantas-Torres, F. & Otranto, D. (2014). Lungworms of the genus *Troglostrongylus* (Strongylida: Crenosomatidae): neglected parasites of domestic cats. *Veterinary Parasitology*, 202, 104–112.
- Calvete, C., Lucientes, J., Castillo, J. A., Estrada, R., Gracia, M. J., Peribáñez, M. A., & Ferrer, M. (1998). Gastrointestinal helminth parasites in stray cats from the mid-Ebro Valley, Spain. *Veterinary Parasitology*, 75 (2-3), 235 – 240.
- Canto, G. J., Guerrero, R. I., Olvera-Ramirez, A. M., Milian, F., Mosqueda, J. & Aguilar-Tipacamu, G. (2013). Prevalence of fleas and gastrointestinal parasites in free-roaming cats in central Mexico. *PLoS One*, 8(4), e60744.
- Capári, B., Hamel, D., Visser, M., Winter, R., Pfister, K. & Rehbein, S. (2013). Parasitic infections of domestic cats, *Felis catus*, in western Hungary. *Veterinary Parasitology*, 192, 33 – 42.
- Casemore, D.P., Armstrong, M., & Sands, R.L. (1985). Laboratory diagnosis of cryptosporidiosis. *Journal of Clinical Pathology*, 38, 1337–1341.
- Chapman, P. S., Boag, A. K., Guitian, J. & Boswood, A. (2004). *Angiostrongylus vasorum* infection in 23 dogs (1999–2002). *Journal of Small Animal Practice*, 45, 435 – 440.
- Coati, N., Schnieder, T. & Epe, C. (2004). Vertical transmission of *Toxocara cati* Schrank 1788 (Anisakidae) in the cat. *Parasitology Research*, 92, 142 – 146.
- Colella, V., Giannelli, A., Brianti, E., Ramos, R. A. N., Cantacessi, C., Dantas-Torres, F., & Otranto, D. (2015). Feline lungworms unlock a novel mode of parasite transmission. *Scientific Reports*, 5, 13105.
- Coman, B. J., Jones, E. H. & Driesen, M. A. (1981). Helminth parasites and arthropods of feral cats. *Australian Veterinary Journal*, 57, 324–327.

- Corcoran, B. (2000). Diagnóstico diferencial da tosse. In Fuentes, V., Johnson, L. & Dennis, S. (Eds.), *Manual de medicina e cirurgia cardiorrespiratória em pequenos animais*. (2<sup>nd</sup> ed.). Gloucestershire: BSAVA.
- Costa, P. S. & Lopes, W. G. (1994). Hipnozoítas de *Cystoisospora felis* (Apicomplexa: Cystoisosporinae). *Revista Brasileira de Ciência Veterinária*, 1(1), 35-36.
- Crellin, J. R., Marchiondo, A. A. & Anderson, F. L. (1980). Comparison of suitability of dogs and cats as hosts of *Echinococcus multilocularis*. *American Journal of Veterinary Research*, 42, 1980-1981.
- De Carneri, I. & Castellino, S. (1961). Incapacità delle larve di *Ancylostoma tubaeforme* di provocare dermatiti nell'uomo. *Revista Parasitologia*, 25, 31-24.
- Deplazes, P., van Knapen, F., Schweiger, A., & Overgaaauw, P. A. M. (2011). Role of pet dogs and cats in the transmission of helminthic zoonoses in Europe, with a focus on echinococcosis and toxocarosis. *Veterinary Parasitology*, 182(1), 41-53.
- Dhaliwal, B. B. & Juyal, P. D. (2013). *Parasitic Zoonoses*. Índia: Springer.
- Di Cesare, A., Crisi, P. E., Di Giulio, E., Veronesi, F., Regalbono, A. F., Talone, T. & Traversa, D. (2013). Larval development of the feline lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* in *Helix aspersa*. *Parasitology Research*, 112(9), 3101-3108.
- Di Cesare, A., Veronesi, F., Grillotti, E., Manzocchi, S., Perrucci, S., Beraldo, P., Caxxin, S., De Liberato, C., Barros, L. A., Simonato, G. & Traversa, D. (2015). Respiratory nemátodes in cat populations of Italy. *Parasitology Research*, 114(12), 4463-4469.
- Dillon, A. R., Tillson, D. M., Hathcock, J., Brawner, B., Wooldridge, A., Cattley, R., Welles, B., Barney, S., Lee-Fowler, T., Botzman, L., Sermersheim, M. & Garbarino, R. (2013). Lung histopathology, radiography, highresolution computed tomography, and bronchio-alveolar lavage cytology are altered by *Toxocara cati* infection in cats and is independent of development of adult intestinal parasites. *Veterinary Parasitology*, 193, 416-426.
- Dirven, M., Szatmári, V., van den Ingh, T. & Nijse, R. (2012). Reversible pulmonary hypertension associated with lungworm infection in a young cat. *Journal of Veterinary Cardiology: the official journal of the European society of Veterinary Cardiology*, 14, 465-474.
- Dryden, M. W., Payne, P. A. & Smith, V. (2006). Accurate diagnosis of *Giardia* spp and proper fecal examination procedures. *Veterinary Therapeutics: research applied veterinary medicine*, 7, 4-14.
- Duarte, A., Castro, I., Pereira da Fonseca, I. M., Almeida, V., Madeira de Carvalho, L. M., Meireles, J., Fazendeiro, M. I., Tavares, L., & Vaz, Y. (2010). Survey of infectious and parasitic diseases in stray cats at the Lisbon Metropolitan Area, Portugal. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 12(6), 441-6.
- Dubey, J. P. (1979). Life cycle of *Isospora rivolta* (Grassi 1879) in cats and mice. *Journal of Protozoology*, 26, 433-443.
- Dubey, J. P. & Greene, C. E. (2006). Enteric coccidiosis. In Greene, C. E. (Ed.), *Infectious diseases of the dog and cat*. (3<sup>rd</sup> ed.). St Louis: Saunders Elsevier.
- Dubey, J. P., Lindsay, D. S. & Lappin, M. R. (2009). Toxoplasmosis and Other Intestinal Coccidial Infections in Cats and Dogs. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice*, 39 (6), 1009-1034.



- Dungworth, D. L. (1993). The respiratory system. In K. V. F. Jubb, P. C. Kennedy & N. Palmer (Eds.), *The pathology of domestic animals*. (4<sup>th</sup> ed.). San Diego: Academic Press.
- Dürr, B. (2009). Diagnosis of *Aelurostrongylus abstrusus* infection by fine needle aspiration of the lungs in two cats. *Kleintierpraxis*, 54(2), 88-92.
- Dyachenko, V., Pantchev, N., Gawlowska, S., Vrhovec, M. G & Bauer, C. (2008). *Echinococcus multilocularis* infections in domestic dogs and cats from Germany and other European countries. *Veterinary Parasitology*, 157(34), 244-253.
- Eberhard, M. L. & Alfano, E. (1998). Adult *Toxocara cati* infections in U.S. children: report of four cases. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 59, 404-406.
- Ehrenford, F. A. (1953). Differentiation of the ova of *Ancylostoma caninum* and *Uncinaria stenocephala* in dogs. *American Journal Veterinary Research*, 14, 578–580.
- Engbaek, K., Madsen, H. & Larsen, S. O. (1984). A survey of helminths in stray cats from Copenhagen with ecological aspects. *Zeitschrift für Parasitenkunde*, 70(1), 87–94.
- Epe, C., Rehker, G., Schnieder, T., Lorentzen, L. & Kreienbrock, L. (2010). Giardia in symptomatic dogs and cats in Europe – Results of a European study. *Veterinary Parasitology*, 173, 32-38.
- ESCCAP, European Scientific Counsel Animal Parasites. (2010). Guideline 1: Worm control in dogs and cats. (2<sup>nd</sup> ed.).
- ESCCAP, European Scientific Counsel Animal Parasites. (2011). Guideline 6: Control of intestinal protozoa in dogs and cats. (1<sup>st</sup> ed.)
- Fahrion, A. S., Schnyder, M., Wichert, B. & Deplazes, P. (2011). Toxocara eggs shed by dogs and cats and their molecular and morphometric species-specific identification: is the finding of T. cati eggs shed by dogs of epidemiological relevance? *Veterinary Parasitology*, 177(1-2), 186–9.
- Fayer, R. (2010). Taxonomy and species delimitation in *Cryptosporidium*. *Experimental Parasitology*, 124, 90–97.
- Ferdushi, T. & Hasan, M. T. (2010). *Angiostrongylus vasorum*: the ‘French heartworm’. *Parasitology Research*, 107, 765–771.
- Fernandes, A. D. (2012). *Parasitismo por Giardia spp. em canis de criação na região de Viseu, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Ferreira da Silva, J. M., Pereira da Fonseca, I. M., Madeira de Carvalho, L. M., Meireles, J. A. F. S. & Fazendeiro, I. (2005). Pneumonia em gato por *Aelurostrongylus abstrusus* – necessidade de um diagnóstico precoce. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinárias*, 100, 103-106.
- Ferreira, F. S., Pereira-Baltasar, P., Parreira, R., Padre, L., Vilhena, M., Távira, L. T., Atouguia, J. & Centeno-Lima, S. (2011). Intestinal parasites in dogs and cats from district of Évora, Portugal. *Veterinary Parasitology*, 179, 242-245.
- Fleischer, P. (Ed.). (2006). *Parasites: Latching on to a free lunch*. Minneapolis: Twenty-First Century Books

- Foster, S. F., Martin, P., Braddock, J. A. & Malik, R. (2004). A retrospective analysis of feline bronchoalveolar lavage cytology and microbiology (1995–2000). *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, 189–198.
- Fox, J. (2005). The R Commander: a Basic Statistics Graphical User Interface to R. *Journal of Statistics Software*, 14 (9):1-42.
- Frenkel, J. K. & Dubey, J. P. (1972). Rodents as vectors for feline coccidia, *Isospora felis* and *Isospora rivolta*. *The Journal of Infectious Diseases*, 125, 69–72.
- Garcia, L.S., Shum, A.C. & Bruckner, D.A. (1992). Evaluation of a new monoclonal antibody combination reagent for direct fluorescence detection of *Giardia* cysts and *Cryptosporidium* oocysts in human fecal specimens. *Journal of Clinical Microbiology*, 30(12), 3255–3257.
- Genchi, M., Ferrari, N., Fonti, P., De Francesco, I., Piazza, C. & Viglietti, A. (2014). Relation between *Aelurostrongylus abstrusus* larvae excretion, respiratory and radiographic signs in naturally infected cats. *Veterinary Parasitology*, 206(3-4), 182-187.
- Gerdin, J. A., Slater, M. R., Makolinski, K. V., Looney, A. L., Appel, L. D., Martin, N. M. & McDonough, S. P. (2011). Post-mortem findings in 54 cases of anesthetic associated death in cats from two spay-neuter programs in New York State. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 13, 959–966.
- Gerichter, C. B. (1949). Studies on the nemátodes parasitic in the lungs of Felidae in Palestine. *Parasitology* 39, 251–262.
- Geurden, T., & Claerebout, E. (2010). Relevance of *Giardia* infections in Veterinary Medicine. In G. V. LaMann, *Veterinary Parasitology*. New York, USA: Nova Science Publishers, Inc.
- Giannelli, A., Brianti, E., Varcasia, A., Colella, V., Tamponi, C., Di Paola, G., Knaus, M., Halos, L., Beugnet, F. & Otranto, D. (2015a). Efficacy of Broadline® spot on against *Aelurostrongylus abstrusus* and *Troglostrongylus brevior* lungworms in naturally infected cats from Italy. *Veterinary Parasitology*, 209, 273–277.
- Giannelli, A., Cantacessi, C., Colella, V., Dantas-Torres, F. & Otranto, D. (2015). Gastropod-Borne Helminths: a look at the snail-parasite interplay. *Trends in Parasitology*, 32(3), 255-264.
- Giannelli, A., Colella, V., Abramo, F., do Nascimento Ramos, R. A., Falsone, L., Brianti, E., Varcasia, A., Dantas-Torres, F., Knaus, M., Fox, M. T. & Otranto, D. (2015c). Release of Lungworm Larvae from Snails in the Environment: Potential for Alternative Transmission Pathways. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9(4), e0003722.
- Gökpinar, S. & Yildiz, K. (2010). The effect of different temperatures on viability of *Aelurostrongylus abstrusus* first stage larvae in faeces of cats. *Acta parasitologica Turcica*, 34, 102–105.
- Gookin, J. L., Riviere, J. E., Gilger, B. C. & Papich, M. G. (1999). Acute renal failure in four cats treated with paromomycin. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 215, 1821–1823.
- Gookin, J. L., Stebbins, M. E., Hunt, E., Burlone, K., Fulton, M., Hochel, R., Talaat, M., Poore, M., Levy & M. G. (2004). Prevalence of and risk factors for feline *Tritrichomonas foetus* and giardia infection. *Journal Clinical Microbiology*, 42(6), 2707-2710.

- Gordon, J. K., Mattahei, C. & Van Heezik, Y. (2010). Belled collars reduce catch of domestic cats in New Zealand by half. *Wildlife Research*, 37, 372–378.
- Gow, A. G., Gow, D. J., Hall, E. J., Langton, D., Clarke, C. & Papasouliotis, K. (2009). Prevalence of potentially pathogenic enteric organisms in clinically healthy kittens in the UK. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 11, 655–662.
- Grabarevic, Z., Curic, S., Tustonja, A., Artukovic, B., Šimec, Z., Ramadan, K. & Zivicnjak, T. (1999). Incidence and regional distribution of the lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* in cats in Croatia. *Veterinarski arhiv zagreb*, 69, 279–287.
- Gracenea, M., Soledad Gómez, M. & Torres, J. (2009). Prevalence of intestinal parasites in shelter dogs and cats in the metropolitan area of Barcelona (Spain). *Acta Parasitologica*, 54, 73–77.
- Grandi, G., Calvi, L. E., Venco L., Paratici, C., Genchi, C., Memmi, D. & Kramer, L. H. (2005). *Aelurostrongylus abstrusus* (cat lungworm) infection in five cats from Italy. *Veterinary Parasitology*, 134, 177–182.
- Gruffydd-Jones, T., Addie, D., Belák, S., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Hartmann, K., Hosie, M., Lloret, A., Lutz, H., Marsillio, F., Möstl, K., Pennisi, M., Radford, A., Thiry, E., Truyen, U. & Horzinek, M. (2013). Giardiasis in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 650–652.
- Grupo Marketest (2015). *Gato é o melhor amigo de 2,4 milhões de portugueses*. Acedido em Mar, 26, 2016. Disponível em: <http://www.marktest.com/wap/a/n/id~1f29.aspx>
- Hall, E. J. & German, A. J. (2010). Diseases of the Small Intestine. In Ettinger, S. J., Feldman, E. C. (Eds.), *Textbook of Veterinary Internal Medicine*. (6<sup>th</sup> ed.). St. Louis: Elsevier.
- Hamilton, J. M. (1963). *Aelurostrongylus abstrusus* infestation of the cat. *Veterinary Record*, 75, 417–422.
- Hamilton, J. M. & McCaw, A. W. (1967). An investigation into the longevity of first stage larvae of *Aelurostrongylus abstrusus*. *Journal of Helminthology*, 41, 313–320.
- Hamilton, J. M. & Roberts, A. J. (1968). Immunofluorescence as a diagnostic procedure in lungworm disease of the cat. *Veterinary Record*, 83, 401–403.
- Headley, S. A. (2005). Pneumonia induzida por *Aelurostrongylus abstrusus* em gatos: achados patológicos e epidemiológicos de 38 casos (1987–1996). *Semina: Ciências Agrárias*, 26 (3), 373–380.
- Hecking-Veltman, J., Tenter, A. M. & Dauschies, A. (2001). Studien zur Parasitenfauna bei streunenden Katzen im Raum Mönchengladbach. *Der Praktische Tierarzt*, 82, 563 – 569.
- Hendrix, C. M. (1995). Helminth infections of the feline small and large intestine: diagnosis and treatment. *Veterinary Medicine*, 90, 456–76.
- Hiepe, T., Buchwald, A. & Schindler, W. (1988). Untersuchungen zum Parasitenvorkommen streunender Hauskatzen unter besonderer Berücksichtigung der Helminthen. *Wien Tierärztl Monatschr*, 75, 499–503.
- Hille, K., Mobius, N., Akmatov, M. K., Verspohl, J., Rabold, D., Hartmann, M., Günther, K., Obi, N. & Kreienbrock, L. (2014). Zoonoses research in the German National Cohort :

- feasibility of parallel sampling of pets and owners. *Bundesgesundheitsblatt Gesundheitsforschung Gesundheitsschutz*, 57(11), 1277–1282.
- Hobmaier, M. & Hobmaier, A. (1935). Intermediate hosts of *Aelurostrongylus abstrusus* of the cat. *Experimental Biology and medicine*, 32, 1641-1647.
- House, S. A., Richter, D. J., Pham, J. K. & Dawson, S. C. (2011). *Giardia* flagellar motility is not directly required to maintain attachment to surfaces. *PLoS Pathogens*, 7(8), 1-13.
- Hutchings, S. (2003). The diet of feral house cats (*Felis catus*) at a regional rubbish tip, Vitoria. *Wildlife Research*, 30, 103–110.
- Iannino, F., Iannetti, L., Paganico, D. & Vulpiani, M. (2013). Evaluation of the efficacy of selamectin spot-on in cats infested with *Aelurostrongylus abstrusus* (Strongylida, Filariodidae) in a Central Italy cat shelter. *Veterinary Parasitology*, 197, 258-262.
- Instituto Nacional de Estatística, I.P. (2012). *Censos 2011 resultados Definitivos – Distrito de Braga e Viana do Castelo*. Lisboa, Portugal. Acedido em Mar. 28, 2016, disponível em: <https://www.ine.pt>
- Iorio, R. & Traversa, D. (2008). New epidemiological and molecular insights into feline lungworm infection. *Annals of New York Academy of Science*, 1149, 174–176.
- IPMA (2016). *Boletim climatológico sazonal: Inverno 2015/16*. Acedido em Abr. 9, 2016. Disponível em: <http://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1>
- IPMA. (2016). *Boletim climatológico: Fevereiro 2016*. Acedido em Abr. 9, 2016. Disponível em: <http://www.ipma.pt/pt/publicacoes/boletins.jsp?cmbDep=cli&cmbTema=pcl&idDep=cli&idTema=pcl&curAno=-1>
- Jarvinen, J. A. (2007). Tapeworms (Cestodiasis). In L. P. Tilley & F. W. K. Smith (Eds.), *Blackwell's Five Minute Veterinary Consult: Canine and Feline*. (4<sup>th</sup> ed.). Ames: Blackwell Publishing.
- Khademvatan, S., Abdizadeh, R., & Tavalla, M. (2014). Molecular characterization of *Toxocara* spp. from soil of public areas in Ahvaz southwestern Iran. *Acta Tropica*, 135, 50–4. Elsevier B.V.
- Kirkpatrick C. E. & Farrell, J. P. (1984). Feline giardiasis: observations on natural and induced infections. *American Journal of Veterinary Research*, 45, 2182–2188.
- Knaus, M., Kusi, I., Rapti, D., Xhaxhiu, D. & Winter, R. (2011). Endoparasites of cats from the Tirana area and the first report on *Aelurostrongylus abstrusus* (Railliet, 1898). *Wiener Klinische Wochenschrift*, 123, 31–35.
- Lacorcía, L., Gasser, R. B., Anderson, G. A. & Beveridge, I. (2009). Comparison of bronchoalveolar lavage fluid examination and other diagnostic techniques with the Baermann technique for detection of naturally occurring *Aelurostrongylus abstrusus* infection in cats. *Journal of American Veterinary Medicine and Association*, 235, 43-49.
- Ładczuk, D. & Balicka-Ramisz, A. (2010). Occurrence of parasites in the alimentary canal of cats from Szczecin area, Poland. *Wiadomości Parazytologiczne*, 56, 235 – 242.
- Lappin, M.R. (2010). Update on the Diagnosis and Management of *Isospora* spp Infections in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25 (3), 133-135.

- Lappin, M.R. (2011). Diagnosis and treatment of *Cryptosporidium* and *Isospora* in cats. *Proceedings of the 36th World Small Animal Veterinary Congress WSAVA*, Jeju, Korea, 868–871.
- Lautenslager, J. F. (1976). Internal helminths of cats. *The Veterinary Clinics of North America*, 6, 353-365.
- Lefkaditis, M. A., Paştıu, A. I., Rodi-Buriel A., Sossidou, A. V., Panorias, A. H., Eleftheriadis, T. G., Cozma, V. & Mihalca, A. D. (2014). Helminth burden in stray cats from Thessaloniki, Greece. *Helminthologia*, 51 (1), 73 – 76.
- Leitão, J.L.S. e Meireles, J.A.F.S. (1983). *Doenças Parasitárias do Cão e do Gato*. Litexa Portugal, pp. 35-36
- Lendner, M. & Daugschies, A. (2014). *Cryptosporidium* infetions: molecular advances. *Parasitology*, 141, 1511–1532.
- Lewis, D. T., Merchant, S. R. & Neer, T. M. (1994). Ivermectin toxicosis in a kitten. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 205, 584–586.
- Lindsay, D. S. & Blagburn, B.L. (1994). Biology of Mammalian *Isospora*. *Parasitology Today*, 10(6), 214-220.
- Lindsay, D. S., Dubey, J. P. & Blagburn, B. L. (1997). Biology of *Isospora* species from humans, non human primates and domestic animals. *Clinical Microbiology Reviews*, 10, 19 – 34.
- Little, S. E., Johnson, E. M., Lewis, D., Jaklitsch, R. P., Payton, M. E., Blagburn, B. L., Bowman, D. D., Moroff, S., Tams, T., Rich, L. & Aucoin, D. (2009). Prevalence of intestinal parasites in pet dogs in the United States. *Veterinary Parasitology*, 166, 144–152.
- Lloyd, S. & Smith, J. (2001). Ativity of toltrazuril and diclazuril against *Isospora* species in kittens and puppies. *Veterinary Record*, 148, 509 – 511.
- López, J., Abarkca, K., Paredes, P. & Inzunza, E. (2006). Intestinal parasites in dogs and cats with gastrointestinal symptoms in Santiago, Chile. *Revista médica de Chile*, 134, 193–200.
- Losonksy, J. M., Thrall, D. E. & Prestwood, A. K. (1983). Radiographic evaluation of pulmonary abnormalities after *Aelurostrongylus abstrusus* inoculation in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 44, 478- 482.
- Lucio-Forster, A., Griffiths, J.K., Cama, V.A., Xiao, L. & Bowman, D.D. (2010). Minimal zoonotic risk of cryptosporidiosis from pet dogs and cats. *Trends in Parasitology*, 26 (4), 174-179.
- Mackerras, M. J. (1957). Observations on the life history of the cat lungworm, *Aelurostrongylus abstrusus* (Railliet, 1898) (Nematoda: Metastrongylidae). *Australian Journal Zoology*, 5, 188–195.
- Madeira de Carvalho, L. M., Pereira da Fonseca, I. M., Rosário, M. A. R., Soares, M. J. A., Gomes, L. M. N., Meireles, J. A. F. S., & Fazendeiro, M. I. (2005). Dermatoses parasitárias em pequenos animais. Casuística de 1999-2004 do Laboratório de Doenças Parasitárias da FMV. *XXIX Jornadas Médicas-Veterinárias da FMV*,

- Madeira de Carvalho, L.M., Pereira da Fonseca, I.M., Gomes, L. & Meireles, J.M. (2009). Lungworms in domestic and wild carnivores in Portugal: rare parasites or rarely diagnosed. *Bayer angiostrongylosis forum, Porto, Portugal, 9 September 2009*, p.28. Leverkusen, Germany: Bayer Animal Health GmbH.
- Mancianti, F., Nardoni, S., Mugnaini, L., Zambernardi, L., Guerrini, A., Gazzola, V., Papini, R. A. (2015). A retrospective molecular study of select intestinal protozoa in healthy pet cats from Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 17(2), 163–167.
- Marks, S. L., Hanson, T. E. & Melli, A. C. (2004). Comparison of direct immunofluorescence, modified acid-fast staining, and enzyme immunoassay techniques for detection of *Cryptosporidium* spp in naturally exposed kittens. *Journal American Veterinary Medical Association*, 225, 1549–1553.
- Marques, P. C., & Costa, N. (2014). *Excel 2013 (1ª Ed.)*. Curitiba: Fundamental.
- Mathews BE. (1975). Mechanism of skin penetration by *Ancylostoma tubaeforme* larvae. *Parasitology*, 70, 25–38.
- Matos, M., Alho, A. M., Owen, S. P., Nunes, T., Madeira De Carvalho, L. (2015) Parasite control practices and public perception of parasitic diseases: A survey of dog and cat owners. *Preventive Veterinary Medicine*, 122 (1–2), 174–180.
- McGlade, T. R., Robertson, I. D., Elliot, A. D. & Thompson, R. C. (2003) High prevalence of *Giardia* detected in cats by PCR. *Veterinary Parasitology*, 110: 197-205.
- Mekaru, S.R., Marks, S.L., Felley, A.J., Chouicha, N. & Kass, P.H. (2007). Comparison of direct immunofluorescence, immunoassays, and fecal flotation for detection of *Cryptosporidium* spp. and *Giardia* spp. in naturally exposed cats in 4 Northern California animal shelters. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21, 959–965.
- Meloni, B. P., Thompson, R. C., Reynoldson, J. A. & Seville, P. (1990). Albendazole: a more effective anti-giardial agent in vitro than metronidazole or tinidazole, *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 84, 375-379.
- Mircean, V., Titilincu, A. & Vasile, C. (2010). Prevalence of endoparasites in household cat (*Felis catus*) populations from Transylvania (Romania) and association with risk factors. *Veterinary Parasitology*, 171(1–2), 163–166.
- Mircean, V., Gyorke, A. & Cozma, V. (2012). Prevalence and risk factors of *Giardia duodenalis* in dogs from Romania. *Veterinary Parasitology*, 184, 325–329.
- Millán, J. & Casanova, J. C. (2009). High prevalence of helminth parasites in feral cats in Majorca Island (Spain). *Parasitology Research*, 106, 183–188.
- Miró, G., Montoya, A., Jiménez, S., Frisuelos, C., Mateo, M. & Fuentes, I. (2004). Prevalence of antibodies to *Toxoplasma gondii* and intestinal parasites in stray, farm and household cats in Spain. *Veterinary Parasitology*, 126 (3), 249-255.
- Morgan, E. R., Jefferies, R., Krajewski, M., Ward, P. & Shaw, S. E. (2009). Canine pulmonary angiostrongylosis: the influence of climate on parasite distribution. *Parasitology International*, 58 (4), 406-410.

- Mugnaini, L., Papini, R., Gorini, G., Passantino, A., Merildi, V & Mancianti, F. (2012). Pattern and predictive factors of endoparasitism in cats in Central Italy. *Revue Médicine Vétérinaire*, 163(2), 89-94.
- Nabais, J.N.P. (2012). *Infeção por Aelurostrongylus abstrusus e Angiostrongylus vasorum (nematoda: angiostrongylidae), em gatos e cães no distrito de Lisboa, Portugal*. Dissertação de Mestrado Integrado em Medicina Veterinária. Lisboa: Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade Técnica de Lisboa.
- Näreaho, A., Puomio, J., Saarinen, K., Jokelainen, P., Juselius, T. & Sukura, A. (2012). Feline intestinal parasites in Finland: prevalence, risk factors and anthelmintic treatment practices. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 14(6), 378-383.
- Naylor, J. R., Hamilton, J. M. & Weatherley, A. J. (1984). Changes in the ultrastructure of feline pulmonary arteries following infection with the lungworm *Aelurostrongylus abstrusus*. *British Veterinary Journal*, 140 (2), 181-190.
- Nichol, S., Ball, S. J. & Snow, K. R. (1981). Prevalence of intestinal parasites in feral cats in some urban areas of England. *Veterinary Parasitology*, 9(2), 107–110.
- Nolan, T. J., Niamatali, S., Bhopale, V., Longhofer, S. L. & Schad, G. A. (1992). Efficacy of a chewable formulation of ivermectin against a mixed infection of *Ancylostoma braziliense* and *Ancylostoma tubaeforme* in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 53, 1411–1413.
- Norris, D. E. (1971). The migratory behavior of the infective- stage larvae of *Ancylostoma braziliense* and *Ancylostoma tubaeforme* in rodent paratenic hosts. *Journal of Parasitology*, 57, 998–1009.
- Norris, C. R., Griffey, S. M., Samii, V. F., Christopher, M. M. & Mellema, M. S. (2002). Thoracic radiography, bronchoalveolar lavage cytopathology, and pulmonary parenchymal histopathology: a comparison of diagnostic results in 11 cats. *Journal American Animal Hospital Association*, 38, 337–345.
- Okoshi, S. & Murata, Y. (1967). Experimental studies on ancylostomiasis in cats. V. Visceral migration of larvae of *Ancylostoma tubaeforme* and *A. caninum* in cats. *Japan Journal Veterinary Science*, 29, 315–327.
- Overgaauw, P. A., van Zutphen, L., Hoek, D., Yaya, F.O., Roelfsema, J., Pinelli, E., van Knapen, F. & Kortbeek, L.M. (2009). Zoonotic parasites in fecal samples and fur from dogs and cats in The Netherlands. *Veterinary Parasitology*, 163(1-2), 115-122.
- Palmer, C. S., Traub, R. J., Robertson, I. D., Devlin, G., Rees, R. & Thompson, A. (2008a). Determining the zoonotic significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in Australian dogs and cats. *Veterinary Parasitology*, 154, 142-147.
- Palmer, C. S., Thompson, R. C., Traub, R. J., Rees, R. & Robertson, I. D. (2008b). National study of the gastrointestinal parasites of dogs and cats in Australia. *Veterinary Parasitology*, 151, 181-190.
- Paoletti, B., Otranto, D., Weigl, S., Giangaspero, A., Di Cesare, A. & Traversa, D. (2011). Prevalence and genetic characterization of *Giardia* and *Cryptosporidium* in cats from Italy. *Research in veterinary science*, 91(3), 397-399.
- Payo-Puente, P., Diez, A., Gonzalo-Orden, J. M., Notomi, M. K., Rodríguez-Altónaga, J. A., Rojo-Vázquez, F. A. & Orden, A. M. (2005). Computed tomography in cats infected

with *Aelurostrongylus abstrusus*: 2 clinic cases. *The Internacional Journal of Applied Research in Veterinary Medicine*, 3, 339-343.

- Payo-Puente, P., Botelho-Dinis, M., Urueña, A. M. C., Payo-Puente, M., Gonzalo-Orden, J.M. & Rojo-Vázquez, F. A (2008). Prevalence study of lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* in stray cats of Portugal. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 242-246.
- Pechman, R. D. (1995). Respiratory parasites. In Sherding, R. D (Ed.), *The cat: diseases and clinical management*. (2<sup>nd</sup> ed.). New York: Churchill Livingstone.
- Peleteiro, M. C., Meireles, J. F. S. & Bento, J. L. (1990). Um caso pneumonia parasitária em gato por *Aelurostrongylus abstrusus* (1988-1989). *Anais da Faculdade de Medicina-Veterinária*, 25, 73-82.
- Pennisi, M. G., Niutta, P. P. & Giannetto, S. (1995). Lung Worm Disease in cats caused by *aelurostrongylus abstrusus*. *Tijdschrift Diergeneeskunde*, 120, 262–266.
- Pennisi, M. G., Hartmann, K., Addie, D. D., Boucraut-Baralon, C., Egberink, H., Frymus, T., Gruffydd-Jones, T., Horzinek, M. C., Hosie, M. J., Lloret, A., Lutz, H., Marsilio, F., Radford, A. D., Thiry, E., Truyen, U. & Möstl, K. (2015). Lungworm disease in cats: ABCD guidelines on prevention and management. *Journal of Feline medicine and Surgery*, 17(7), 626-636.
- Ramos, D. G., Scheremeta, R. G., Oliveira, A. C., Sinkoc, A. L. & Pacheco Rde, C. (2013). Survey of helminth parasites of cats from the metropolitan area of Cuiaba, Mato Grosso, Brazil. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinária*, 22(2), 201–206.
- Ramos, R. A., Giannelli, A., Dantas-Torres, F., Brianti, E. & Otranto, D. (2013). Survival of first-stage larvae of the cat lungworm *Troglostrongylus brevior* (Strongylida: Crenosomatidae) under diferente conditions. *Experimental Parasitology*, 135, 570–572.
- Reinemeyer, C. R. (2000). Treatment of parasites. In J.D. Bonogura (Ed.). *Kirk's current veterinary therapy, XIII: small animal practice*. (12<sup>th</sup> ed.). Philadelphia: WB Saunders.
- Reinhardt, S., Ottenjann, M., Schunack, B. & Kohn, B. (2004). Lungworm disease (*Aelurostrongylus abstrusus*) in a cat. *Kleintierpraxis*, 49, 239–246.
- Rehbein, S., Capári, B., Duscher, G., Keidane, D., Kirkova, Z., Petkevičius, S., Rapti, D., Wagner, A., Wagner, T., Chester, S. T., Rosentel, J., Tielemans, E., Visser, M., Winter, R., Kley, K. & Knaus, M. (2014). Efficacy against nematode and cestode infetions and safety of a novel topical fipronil, (S)-methoprene, eprinomectin and praziquantel combination produt in domestic cats under field conditions in Europe. *Veterinary Parasitology*, 202(1-2), 10-17.
- Ribeiro, V. M. & Lima, W.S. (2001). Larval prodution of cats infeted and re-infeted with *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda: Protostrongylidae). *Revue de Médecine Vétérinaire*, 152, 815-829.
- Riggio, F., Mannella, R., Ariti, G. & Perrucci, S. (2013). Intestinal and lung parasites in owned dogs and cats from central Italy. *Veterinary Parasitology*, 193, 78–84.
- Robben, S. R., le Nobel, W. E., Döpfer, D., Hendrikx, W. M., Boersema, J. H., Fransen, F. & Eysker, M. E. (2004). Infetions with helminths and/or protozoa in cats in animal shelters in the Netherlands. *Tijdschr Diergeneeskd*, 129, 2–6.



- Roberson, E. L. & Burke, T. M. (1980). Evaluation of granulated fenbendazole (22.2%) against induced and naturally occurring helminth infections in cats. *American Journal of Veterinary Research*, 41(9), 1499-1502.
- Robertson, I.D. & Thompson, R.C. (2002). Enteric parasitic zoonoses of domesticated dogs and cats. *Microbes and Infection*, 4, 867-873.
- Root, T. L., Price, J. T., Hall, K. R., Schneider, S. H., Rosenzweig, C., Pounds, J. A. (2003). Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature*, 421, 57–60.
- Ryan, U., Fayer, R. & Xiao, L. (2014). *Cryptosporidium* species in humans and animals: current understanding and research needs. *Parasitology*, 141, 1667–1685.
- Ryan, U. & Cacciò, S. M. (2013). Zoonotic potential of Giardia. *International Journal of Parasitology*, 43(12-13), 943-956.
- Schaper, R., Altreuther, G. & Hopkins, T. (2007). Efficacy of Emodepside plus Praziquantel Topical Solution against Immature Stages of Nemátodes (*Ancylostoma* spp. and *Toxocara* sp.) in Cats. *Parasitology Research*, 101, 63–68.
- Schnyder, M., Maurelli, M. P., Morgoglione, M. E., Kohler, L., Deplazes, P., Torgerson, P., Cringoli, G. & Rinaldi, L. (2011). Comparison of faecal techniques including FLOTAC for copromicroscopic detection of first stage larvae of *Angiostrongylus vasorum*. *Parasitology Research*, 109, 63-69.
- Schnyder, M., Di Cesare, A., Basso, W., Guscetti, F., Riond, B., Glaus, T., Crisi, P. & Deplazes, P. (2014). Clinical, laboratory and pathological findings in cats experimentally infested with *Aelurostrongylus abstrusus*. *Parasitology Research*, 113, 1425–1433.
- Scorza, A. V. & Lappin, M. R. (2004). Metronidazole for the treatment of feline giardiasis. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 6, 157-160.
- Scorza, V. & Tangtrongsup, S. (2010). Update on the Diagnosis and Management of *Cryptosporidium* spp Infections in Dogs and Cats. *Topics in Companion Animal Medicine*, 25 (3), 163-169.
- Scott, D. W. (1972). Current knowledge of *Aelurostrongylus abstrusus* in the cat. *Cornell Veterinary*, 63, 483–500.
- Shah, H. L. (1970). Sporogony of the oocysts of *Isospora felis* (Wenyon, 1923) from the cat. *Journal of Protozoology*, 17, 609–614.
- Shah, H. L. (1971). The life cycle of *Isospora felis* (Wenyon, 1923), a coccidium of the cat. *Journal of Protozoology*, 18, 3–17.
- Sharif, M., Nasrolahei, M., Ziapour, S. P., Gholami, S., Daryani, A. & Khalilian, A. (2007). *Toxocara cati* infections in stray cats in northern Iran. *Journal of Helminthology*, 81(1), 63–66.
- Sommerfelt, I. E., Cardillo, N., López, C., Ribicich, M., Gallo, C., & Franco, A. J. (2006). Prevalence of *Toxocara cati* and other parasites in cats' faeces collected from the open spaces of public institutions: Buenos Aires, Argentina. *Veterinary Parasitology*, 140(3-4), 296–301.
- Sousa Dias, V. (1945). Bronco-pneumonia verminosa dos felinos domésticos. *Revista de Medicina Veterinária*, 40, 392-395.

- Spada, E., Proverbio, D., Della Pepa, A., Domenichini, G., Bagnagatti De Giorgi, G., Traldi, G. & Ferro, E. (2013). Prevalence of faecal-borne parasites in colony stray cats in northern Italy. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 15, 672–677.
- Sprent, J. F. A. (1956). Life history and development of *Toxocara cati* (Schränk 1788) in the domestic cat. *Parasitology*, 46, 54–78.
- Stokol, T., Randolph, J. F., Nachbar, S., Rodi, C. & Barr, S. C. (1997). Development of bone marrow toxicosis after albendazole administration in a dog and cat. *Journal of American Veterinary Medicine Association*, 210, 1753–1756.
- Strube, C., Heuer, L., & Janecek, E. (2013). *Toxocara* spp. infections in paratenic hosts. *Veterinary Parasitology*, 193(4), 375–89.
- Tamponi, C., Varcasia, A., Brianti, E., Pipia, A. P., Frau, V., Pinna-Parpaglia, M. L., Sanna, G., Garippa, G., Otranto, D. & Scala, A. (2014). New insights on metastrongyloid lungworms infesting cats of Sardinia, Italy. *Veterinary Parasitology*, 203, 222–226.
- Tangtrongsup, S. & Scorza, V. (2010). Update on Diagnosis and Management of *Giardia* spp Infections in Dogs and Cats. *Topic in Companion Animal Medicine*, 25 (3), 155-162.
- Taubert, A., Pantchev, N., Vrhoves, M., Bauer, C. & Hermosilla, C. (2009). Lungworm infections (*Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis*, *Aelurostrongylus abstrusus*) in dogs and cats in Germany and Denmark in 2003–2007. *Veterinary Parasitology*, 159, 175–180.
- Tavares, L. P., Garrido, J., Geraldes, C. A., Tavares, M. C., & Faria, A. C. (1998). Toxocariase: contributo para o conhecimento epidemiológico no concelho da Feira. *Sociedade Portuguesa de Medicina Interna*, 5(3), 152–157.
- Tennent, J. & Downs, C. T. (2008). Abundance and home ranges of feral cats in an urban conservancy where there is supplemental feeding: A case study from South Africa. *African Zoology*, 43, 218–229.
- Thompson, R.C.A., Palmer, C.S. & O'Handley R. (2008). The public health and clinical significance of *Giardia* and *Cryptosporidium* in domestic animals. *The Veterinary Journal*, 177, 18-25.
- Tolnai, Z., Széll, Z. & Sréter, T. (2015). Environmental determinants of the spatial distribution of *Angiostrongylus vasorum*, *Crenosoma vulpis* and *Eucoleus aerophilus* in Hungary. *Veterinary Parasitology*, 207, 355-358.
- Trachsel, D., Deplazes, P. & Mathis, A. (2007). Identification of taeniid eggs in the faeces from carnivores based on multiplex PCR using targets in mitochondrial ADN. *Parasitology*, 134(6), 911-920.
- Traversa, D., Cesare, A., Milillo, P., Iorio, R. & Otranto, D. (2008a). *Aelurostrongylus abstrusus* in a feline colony from central Italy: clinical features, diagnostic procedures and molecular characterization. *Parasitology Research*, 103, 1191-1196.
- Traversa, D., Lia, R. P., Iorio, R., Boari, A., Paradies, P., Capelli, G., Avolio, S. & Otranto, D. (2008b). Diagnosis and risk factors of *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida) infection in cats from Italy. *Veterinary Parasitology*, 153, 182-186.
- Traversa, D., Iorio, R. & Otranto, D. (2008c). Diagnostic and clinical implications of a nested PCR specific for ribosomal DNA of the feline lungworm *Aelurostrongylus abstrusus* (Nematoda, Strongylida). *Journal of Clinical Microbiology*, 46 (5), 1811-1817.

- Traversa, D. & Guglielmini, C. (2008d). Feline aelurostrongylosis and canine angiostrongylosis: A challenging diagnosis for two emerging verminous pneumonia infections. *Veterinary Parasitology*, 157, 163-174.
- Traversa, D., Milillo, P., Di Cesare, A., Lohr, B., Iorio, R., Pampurini, F., Schaper, R., Bartolini, R., Heine, J. (2009a) Efficacy and safety of emodepside 2.1%/praziquantel 8.6% spot-on formulation in the treatment of feline aelurostrongylosis. *Parasitology Research*, 105, 83-89.
- Traversa, D., Di Cesare, A., Milillo, P., Lohr, B., Pampurini, F., Schaper, R. & Heine, J. (2009b). Efficacy and safety of imidacloprid 10%/moxidectin1% and emodepside 2.1%/praziquantel 8.6% spot-on formulations in the treatment of feline aelurostrongylosis. *Bayer Angiostrongylosis Forum, Porto, Portugal, 9 September 2009*, p. 34. Leverkusen, Germany: Bayer Animal Health GmbH.
- Traversa, D., Di Cesare, A. & Conboy, G. (2010). Canine and feline cardiopulmonary parasitic nemátodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasites & Vectors*, 3, 1-22.
- Traversa, D. (2012). Pet roundworms and hookworms: a continuing need for global worming. *Parasites & Vectors*, 2012, 10(5), 91-110.
- Traversa, D. & Di Cesare, A. (2013). Feline lungworms: what a dilemma. *Trends in Parasitology*, 2, 423-430.
- Tzannes, S., Batchelor, D. J., Graham, P. A., Pinchbeck, G. L., Wastling, J. & German, A. J. (2008). Prevalence of *Cryptosporidium*, *Giardia* and *Isospora* species infetions in pet cats with clinical signs of gastrointestinal disease. *Journal of Feline Medicine and Surgery*, 10, 1 – 8.
- Uga, S., Minami, T., & Nagata, K. (1996). Defecation habits of cats and dogs and contamination by *Toxocara* eggs in public park sandpits. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 54(2), 122-6.
- Uga, S., Matsuo, J., Kimura, D., Rai, S. K., Koshino, Y. & Igarashi, K. (2000). Differentiation of *Toxocara canis* and *T. cati* eggs by light and scanning eletron microscopy. *Veterinary Parasitology*, 92, 287-294.
- Urquhart, G. M., Armour, J., Duncan, J. L., Dunn, A. M., & Jennings, F. W. (1996). *Veterinary Parasitology* (2<sup>nd</sup> ed.). Oxford: Blackwell Science Ltd.
- Varcasia, A., Tamponi, C., Brianti, E., Cabras, P. A., Boi, R., Pipia, A. P., Giannelli, A., Otranto, D. & Scala, A. (2014). *Angiostrongylus chabaudi* Biocca, 1957: a new parasite for domestic cats? *Parasites & Vectors*, 7, 588-593.
- Vaz, Y., Almeida, V., Pereira da Fonseca, I. M., Duarte, A., Madeira de Carvalho, L. M., Meireles, J. A. F. S., & Fazendeiro, M. I. (2005). Estudo de doenças transmissíveis em populações de gatos errantes. *Revista Portuguesa de Ciências Veterinarias*, (Suplemento), 9-10.
- Vogel, H. (1957). Über den *Echinococcus multilocularis* Süddeutschlands. 1. Das Bandwurmstadium von Stämmen menschlicher und tierischer Herkunft. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie*, 8, 405-454.
- Waap, H., Gomes, J. & Nunes, T. (2013). Parasite communities in stray cat populations from Lisbon, Portugal. *Journal of Helminthology*, 30, 1-7.

- Warren, G. (1971). Studies on the morphology and taxonomy of the genera *Toxocara* Stiles, 1905 and *Neoascaris* Travasso, 1927. *Zoologischer Anzeiger*, 185, 393–442.
- Weese, J. S. & Peregrine, A. (2011). *Companion Animal Zoonoses*. (1<sup>st</sup> ed.). Ames: Wiley-Blackwell.
- Wilcox, R. S., Bowman, D. D., Barr, S. C. & Euclid, J. M. (2009). Intestinal obstruction caused by *Taenia taeniaeformis* infection in a cat. *Journal of American Animal Hospital Association*, 45(2), 93-96.
- Willard, M. D., Roberts, R. E., Allison, N., Grieve, R. B. & Escher, K. (1988). Diagnosis of *Aelurostrongylus abstrusus* and *Dirofilaria immitis* infections in cats from a human shelter. *Journal of the American Veterinary Association*, 192 (7), 913-916.
- Xiao, L. (2010). Molecular epidemiology of cryptosporidiosis: update. *Experimental Parasitology*, 124, 80–89.
- Yildiz, K., Duru, S. Y. & Gokpinar, S. (2011). Alteration in blood gases in cats naturally infected with *Aelurostrongylus abstrusus*. *Journal of Small Animal Practice*, 52 (7), 376-379.
- Zajac, A. M., & Conboy, G. A. (2012). *Veterinary Clinical Parasitology* (8th ed.). Chichester, West Sussex, UK: Wiley-Blackwell.
- Zeyhle, E. & Bosche, D. (1982). Comparative experimental infections of cats and foxes with *Echinococcus multilocularis*. *Zentralblatt für Bakteriologie*, 277, 117–118.

## VII. ANEXOS

### ANEXO A

#### Como saber se o seu gato tem parasitas pulmonares?

- 🐾 Recolher fezes do seu gato e armazenar no frigorífico até ao momento de entrega (caso contrário, as larvas podem desintegrar-se e não são detectadas no microscópio)
- 🐾 Entregar no balcão de atendimento desta clinica veterinária
- 🐾 Preencher ficha que vai acompanhar a amostra;
- 🐾 Esperar cerca de 48 horas pelo resultado.

Será que o meu gato tem parasitas pulmonares?

Rastreio Coprológico Gratuito



U LISBOA | UNIVERSIDADE DE LISBOA



## Parasitoses Pulmonares em Felinos

Os gatos podem ser afectados por vários parasitas. No caso dos parasitas pulmonares, estes instalam-se no aparelho respiratório provocando tosse, espirros e corrimento nasal.

O parasita pulmonar mais comum dos gatos é o *Aelurostrongylus abstrusus* (figura abaixo).



## Quais são os gatos que tem maior probabilidade de contrair esta parasitose?

Os gatos com acesso ao exterior e hábitos de caça devido à ingestão de aves, répteis, ratos ou caracóis infectados.

## Ciclo de Vida do *Aelurostrongylus abstrusus*



## Quais são os sinais clínicos mais comuns?

Os sinais clínicos mais comuns são a tosse, espirros, corrimento nasal e aumento da frequência respiratória. Estes sinais são causados pela irritação que as larvas e a produção de ovos provocam na traqueia e brônquios.

No entanto, pode haver animais assintomáticos, ou seja, estão parasitados mas não apresentam sinais.

## Como é feito o diagnóstico?

O diagnóstico é feito através da observação das larvas no microscópio.

A eliminação de larvas nas fezes dos gatos não é feita de forma contínua, sendo recomendado a recolha do total de fezes emitidas em 24 horas, se possível durante 3 dias.



## ANEXO B – *Crenosoma vulpis* in a four-month old puppy

Matos B, Colella V, Alho AM, Otranto D, Doyle R, Madeira de Carvalho L. (2016). Early infection by *Crenosoma vulpis* in a puppy. *Helminthologia*.

HELMINTHOLOGIA, 53, X: XX – XX, 2016

### Case Report

### *Crenosoma vulpis* infection in a four-month old puppy

B. MATOS<sup>1</sup>, V. COLELLA<sup>2</sup>, A. M. ALHO<sup>1\*</sup>, D. OTRANTO<sup>2</sup>, R. DOYLE<sup>3</sup>, L. M. DE CARVALHO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, ULisboa, Portugal, \*E-mail: margaridaalho@fmv.ulisboa.pt; <sup>2</sup>Dipartimento di Medicina Veterinaria, Università degli Studi di Bari, Italy; <sup>3</sup>The Wylie Veterinary Centre, Upminster, Essex, UK

#### Article info

Received May 2, 2016  
Accepted June 8, 2016

#### Summary

Here we report the case of a diagnostic and treatment challenge in a four-month old dog from England, presented with one-month history of unproductive cough. Antigen blood test for *Angiostrongylus vasorum* infection was negative. Thoracic radiographs revealed a generalised bronchointerstitial pattern and bronchoscopy showed moving nematodes in the mucus of the bronchial wall. Additionally, Baermann technique revealed a high burden of larvae per gram of faeces. Morphological and molecular analyses confirmed that they were first stage larvae of *Crenosoma vulpis*. The infection was firstly treated with a spot-on solution containing 10% imidacloprid + 2.5% moxidectin, but the dog was still positive after 13 days. Therefore, a seven-day course of fenbendazole was prescribed. This represents one of the youngest dogs ever reported naturally infected by *C. vulpis*. The scant number of reported cases of crenosomosis has led practitioners to consider it as a rare parasitic disease in dogs, delaying a correct and targeted on-time diagnosis. Further studies are needed to perceive the real prevalence of this lungworm and to understand if it is a rare parasite or just rarely diagnosed.

**Keywords:** *Crenosoma vulpis*; puppy; Baermann technique; morphologic identification; molecular identification; England

#### Introduction

Nematodes parasitising the respiratory tract of mammals, commonly referred as lungworms, are increasingly reported in Europe as a cause of infection in animals and humans (Traversa *et al.*, 2010). Among these nematodes, *Crenosoma vulpis*, also known as the fox lungworm, is a metastrongylid that affects the bronchi, bronchioles and trachea of wild and domestic canids (Bihl & Conboy, 1999). This parasite is endemic in the red fox population in Europe (Sréter *et al.*, 2003; Saeed *et al.*, 2006), including Great Britain (Taylor, 2015), and it was reported for the first time in dogs in 1992 in the UK (Cobb & Fisher, 1992). Adult nematodes inhabit the lungs of the definitive hosts and release larvated eggs that hatch to first-stage larvae (L1) and are coughed up and swallowed. L1 are passed in the faeces (Anderson, 1992) and once in the environment, infect gastropod intermediate hosts, developing into infective third-stage larvae (L3) in approximately 17 days (Wetzel & Mueller, 1935). In the common garden snail *Cornu aspersum* (syn *Helix aspersa*) for example, L3 have been detected after 10 days post-infection (Colella *et al.*, 2016). Caniids acquire the infection via the ingestion of infected terrestrial snails or slugs (Stockdale & Hulland, 1970), however alternative routes of

infection for the definitive and intermediate hosts have also been reported for metastrongyles infecting cats and dogs (Barçante *et al.*, 2003; Colella *et al.*, 2015; Giannelli *et al.*, 2015). Canine crenosomosis is typically characterised by bronchitis with a dry, unproductive cough that can be elicited by tracheal palpation, with occasional gagging (Cobb & Fisher, 1992). High parasite burdens may induce mucoid or mucopurulent discharge from the airways along with a chronic and productive cough, which could detrimentally affect dogs' quality of life (Conboy, 2009). In most cases, mild to moderate bronchial patterns with a diffuse interstitial component (more evident at the diaphragmatic lobes) is observed on radiographs (Unterer *et al.*, 2002). Indeed, the diagnosis of crenosomosis is challenging as the clinical presentation closely mimics other respiratory diseases, characterised by minor to mild respiratory signs, such as bronchitis with mucopurulent discharge and chronic cough (Conboy, 2009). Occasionally, small animal practitioners fail to consider *C. vulpis* infection in dogs suffering from chronic cough, misdiagnosing and treating the condition as an allergic respiratory disease (Traversa *et al.*, 2010). In addition, crenosomosis frequently presents with no specific radiographic or haematological abnormalities (Traversa *et al.*,

2010), making critical a timely and reliable diagnosis, based on correct procedures and methodologies (Foster *et al.*, 2004). Here we report the clinical presentation and diagnostic approach carried out in a puppy from England.

### Material and Methods

A four-month old, entire female, wirehaired Dachshund was referred to The Wylie Veterinary Centre, Upminster, Essex UK, in November 2015 with a one-month history of unproductive coughing, refractory to non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and several broad spectrum antibiotic therapies (including cefovecin, metronidazole, amoxicillin and clavulanic acid). The patient lived with another dog in a semi-rural area in Essex (UK). In mid-October, she was core vaccinated against canine distemper, hepatitis, parvovirus, parainfluenza and leptospirosis and treated with a topical parasiticide containing 10 % imidacloprid + 2.5 % moxidectin. After a physical examination, blood was collected from the jugular vein for a complete blood count (CBC), serum chemistry profile and an antigen blood test specific for the detection of *Angiostrongylus vasorum* infection (IDEXX Angio Detect™ Test). In order to assess the lungs, heart and chest wall, the dog was premedicated with acepromazine and

butorphanol, and general anaesthesia was induced with propofol and maintained with isoflurane after tracheal intubation. Lateral and dorso-ventral radiographic projections of the thorax were taken at full inspiration. A flexible bronchoscopy was performed, as well as, a bronchoalveolar lavage (BAL) with 15 mL of warm sterile saline instilled and aspirated five seconds later. The BAL was stored in sterile tubes for cytological evaluation. A qualitative flotation analysis with a sucrose solution, a sedimentation test and a Baermann technique were performed with fresh faecal samples collected through an enema. Larvae were stored in 70 % ethanol and sent to the Parasitology Unit at the Faculty of Veterinary Medicine, ULisboa (Portugal) and to the Department of Veterinary Medicine, University of Bari (Italy) for morphological and molecular parasitological identification. In order to perform molecular characterization, larvae were isolated from the suspension using a 10 µl micropipette and stored in phosphate buffer saline (PBS) solution. Genomic DNA was extracted using a commercial kit (DNeasy Blood & Tissue Kit, Qiagen, GmbH, Hilden, Germany), in accordance with the manufacturer's instructions, and partial mitochondrial 12S rRNA (~330 bp) and nuclear 18S rRNA (~1700 bp) genes were amplified as previously described (Latrofa *et al.*, 2015).

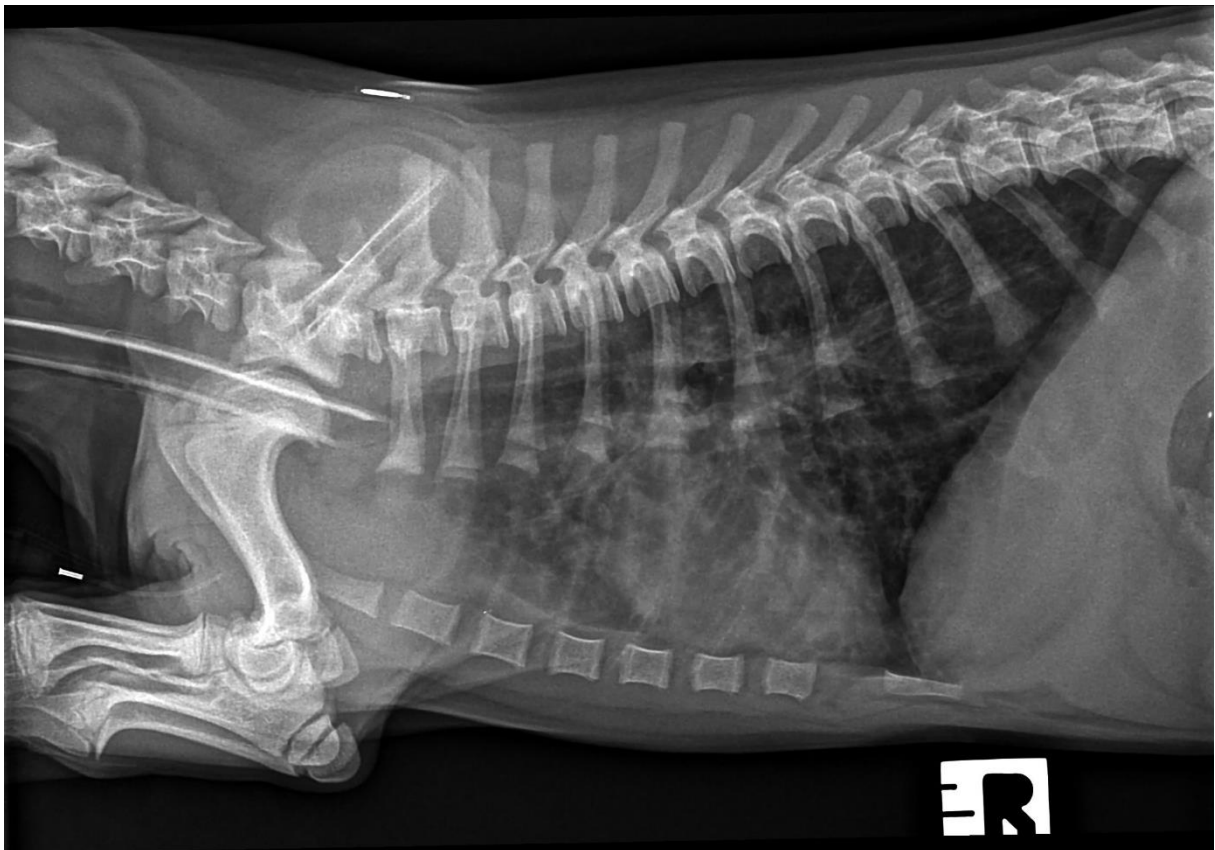


Fig. 1. Right lateral thoracic radiograph of the dog showing thickening of the bronchial walls into the periphery of the lung fields and a diffuse increase in pulmonary opacity throughout the lungs



## Results

On physical examination the dog was bright, alert and responsive with a body condition score of 3/9. Her inspiratory effort was increased and an unproductive cough with terminal retch was noticed during the consultation, although there was no response on tracheal pinch. On thoracic auscultation, normal respiratory sounds were slightly exaggerated over the entire lung field, although there were no adventitious lung sounds. Her heart sounds were normal with synchronous femoral pulses. Her rectal temperature was within normal limits and no enlarged lymph nodes were noticeable. CBC revealed eosinophilia, with no other abnormalities and serum chemistry was unremarkable. The antigen blood test specific for the detection of *A. vasorum* (IDEXX Angio Detect™ Test) revealed a negative result. Lateral and dorso-ventral radiographic projections of the thorax were taken at full inspiration, revealing a normal cardiac silhouette, enhancement and thickening of the bronchial walls spreading into the periphery of the lung fields, and a diffuse increase in pulmonary opacity throughout the lungs (Fig. 1). Flexible bronchoscopy was performed and visualization of the trachea and bronchioles revealed a moderate quantity of mucous and absence of foreign bodies, nodules or masses. After inspection of all primary and secondary bronchioles, a bronchoalveolar lavage (BAL) was performed. During the instillation, a single motile white worm was observed on the mucus of the bronchial wall and cytological evaluation of the

BAL showed the presence of a non-septic exudate with marked eosinophilic infiltration.

After the visualization of the nematode in the respiratory tract, an enema was performed to collect fresh faecal samples. Qualitative flotation analysis and sedimentation test were negative. The sediment collected from the Baermann apparatus revealed the presence of several motile larvae under light microscopy. A quantitative Baermann was performed, revealing 6066 larvae per gram of faeces (LPG). Several filiform C-shaped larvae were visualized, 260 – 290 µm long and 12 – 14 µm wide, consistent with *C. vulpis* L1 (Fig. 2). Regarding the molecular identification, the 12S rDNA sequences obtained from the collected larvae (accession no. KR920039) revealed 100 % identity to the nucleotide sequences of *C. vulpis* available in GenBank®. The patient was treated with a second administration of 10 % imidacloprid + 2.5 % moxidectin spot-on. However, at a re examination 13 days after the spot-on application, L1 of *C. vulpis* were still present in the dog faeces. Therefore, an alternative approach using fenbendazole (50 mg/kg, PO, q 24 hours) was prescribed for seven days. One month later, thoracic radiographs and Baermann analysis, using faeces from three successive days were performed. Radiographs showed a normal lung pattern, no first stage larvae were detected in faeces and the cough resolved after the fourth day of treatment.



Fig. 2. *Crenosoma vulpis* first stage larvae detected at the Baermann technique, 40x magnification. Note the filiform C-shaped larvae with conical tail, consistent with *C. vulpis*

## Discussion

Here we report a case of natural infection by *C. vulpis* in a very young puppy, one of the earliest cases of infection ever reported for this lungworm. Since the first report of this nematode in a domestic dog from the UK (Cobb & Fisher, 1992), only sporadic cases have been diagnosed in the last decade, including reports from Ireland (Reilly *et al.*, 2000), Switzerland (Unterer *et al.*, 2002), Germany (Barutzki & Schaper, 2003), Italy (Rinaldi *et al.*, 2007) and Belgium (Caron *et al.*, 2014). The scant number of reported cases has led practitioners to consider crenosomosis as a rare parasitic disease in dogs. *C. vulpis* is recognized as the primary cause of pulmonary infections in foxes (Magi *et al.*, 2009), with 10.8 % of foxes scoring positive for this parasite in Great Britain (Taylor *et al.*, 2015). This high prevalence in foxes may suggest that this animal species may act as a reservoir host for the infection of dogs living in the UK and that it may also be prevalent in dogs despite the low evidence in the UK (Cobb & Fisher, 1992; Reilly *et al.*, 2000). Indeed, temperature and the high relative humidity in this country represent optimal conditions for the lifecycle of this lungworm (Ferdushy and Hasan 2010). In addition, the free-roaming behaviour of foxes has been considered as one of the major drivers for the geographical dispersal of lungworms (Otranto *et al.*, 2015).

Further studies are needed to investigate long term effects and potential complications when other concomitant infections are present. Clinicians should be mindful that *C. vulpis* can cause chronic respiratory signs refractory to several first line treatments, leading to irresponsible use of medicaments and client frustration due to lack of resolution of troublesome symptoms. Besides, towards a negative *A. vasorum* antigen blood test and the presence of respiratory signs, other techniques must be performed to exclude other lungworm infections in dogs. In fact, *C. vulpis* cannot be easily diagnosed with standard faecal flotation techniques commonly carried out at most veterinary clinics, but by using the Baermann technique, a coprological test considered the gold standard for the diagnosis of lungworm infections (Conboy, 2009). This is a simple, non-invasive, inexpensive diagnostic tool (Koch & Willeßen, 2009), which allows lungworm detection and identification based on the morphological characteristics of L1 (McGarry & Morgan, 2009; Colella *et al.*, 2016). Multiple faecal examinations should be performed to improve detection rates and avoid false negatives (Foster *et al.*, 2004; Koch & Willeßen, 2009). However, this technique is not commonly used in current practice, particularly in patients with respiratory signs, prior to a presumptive diagnosis of allergic respiratory disease and the administration of long-term corticosteroid therapy (Bihr & Conboy, 1999). Considering the time before the patency period (i.e. 18 – 21 days), this dog acquired the infection in a very early age, at approximately three-months old, and the cases available in the literature exclusively report natural infections in dogs older than one year (Reilly *et al.*, 2000; Rinaldi *et al.*, 2007; Caron *et al.*, 2014). Hence, canine crenosomosis should also be taken into account in very young patients suffering from respiratory disease.

Successful treatments in naturally infected dogs have been reported with the use of febantel, fenbendazole, ivermectin, milbemycin oxime (Bihr & Conboy, 1999) and moxidectin (Colella *et al.*, 2016). In two studies, milbemycin oxime (Conboy *et al.*, 2013) and moxidectin (Conboy *et al.*, 2009)

showed 98.7 and 100 % efficacy in the treatment of experimentally infected dogs, respectively. In the case here reported, the treatment with a spot-on solution containing 10 % imidacloprid + 2.5 % moxidectin was unsuccessful in treating *C. vulpis* infection. However, this dog had a larger larval shedding (i.e. 6066 LPG) than those of experimentally infected dogs (i.e. 0 – 152.5 LPG) (Conboy *et al.*, 2009). This could explain why contrarily to the efficacy showed 7 days after the administration of the same spot-on association in experimentally infected animals (Conboy *et al.*, 2009), the dog herein examined was still positive at the re-examination after 13 days. Following the second treatment with fenbendazole on day 13, the dog cured *C. vulpis* infection on day 43, thought it was not possible to determine which of the two treatments was efficacious.

Baermann tests should be performed more routinely to perceive the real prevalence of this lungworm and to understand if it is a rare parasite or just rarely diagnosed. Besides, practitioners should include crenosomosis in the differential diagnosis of respiratory diseases in dogs, particularly in areas where foxes are present, and should foster targeted preventive therapy against this lungworm infection.

## Acknowledgement

To The Wylie Veterinary Centre team, Upminster, Essex UK for their invaluable help, to Angela Doyle for their precious help in English review and to CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, ULisboa, Portugal, reference UID/CVT/00276/2013. Ana Margarida Alho holds a PhD fellowship reference SFRH/BD/85427/2012.

## References

- ANDERSON, R.C. (1992): *Nematode parasites of vertebrates, their development and transmission*. Oxon: CAB International.
- BARÇANTE, T.A., BARÇANTE, J.M., DIAS, S.R., LIMA WDOS, S. (2003): *Angiostrongylus vasorum* (Baillet, 1866) Kamensky, 1905: emergence of third-stage larvae from infected *Biomphalaria glabrata* snails. *Parasitol. Res.*, 91: 471 – 475
- BARUTZKI, D., SCHAPER, R. (2003): Endoparasites in dogs and cats in Germany 1999 – 2002. *Parasitol. Res.*, 90: 148 – 150
- BIHR, T., CONBOY, G.A. (1999): Lungworm (*Crenosoma vulpis*) infection in dogs on Prince Edward Island. *Can. Vet. J.*, 40: 555 – 559
- CARON, Y., MERVEILLE, A.C., LOSSON, B., BILLEN, F. (2014): *Crenosoma vulpis* infection in two young dogs in Belgium. *Vet. Rec. Case Report*, 2: e000098
- COBB, M.A., FISHER, M.A. (1992): *Crenosoma vulpis* infection in a dog. *Vet. Rec.*, 130: 452
- COLELLA, V., GIANNELLI, A., BRIANTI, E., RAMOS, R.A., CANTACESSI, C. DANTAS-TORRES, F., OTRANTO, D. (2015): Feline lungworms unlock a novel mode of parasite transmission. *Sci. Rep.*, 5: 13105
- COLELLA, V., MUTAFCHIEV, Y., CAVALERA, M.A., GIANNELLI, A., LIA, R.P., DANTAS-TORRES, F., OTRANTO, D. (2016): Development of *Crenosoma vulpis* in the common garden snail *Cornu aspersum*: implications for epidemiological studies. *Parasit Vectors.*, 9(1): 208

- CONBOY, G. (2009): Helminth parasites of the canine and feline respiratory tract. *Vet. Clin. North. Am. Small Anim. Pract.*, 39: 1109 – 1126
- CONBOY, G., BOURQUE, A., MILLER, L., SEEWALD, W., SCHENKER, R. (2013): Efficacy of Milbemax (milbemycin oxime + praziquantel) in the treatment of dogs experimentally infected with *Crenosoma vulpis*. *Vet. Parasitol.*, 198: 319 – 324
- CONBOY, G., HARE, J., CHARLES, S., SETTJE, T., HEINE, J. (2009). Efficacy of a single topical application of Advantage Multi (=Advocate) Topical Solution (10 % imidocloprid + 2.5 % moxidectin) in the treatment of dogs experimentally infected with *Crenosoma vulpis*. *Parasitol. Res.*, 105: 49 – 54
- FERDUSHY, T., HASAN, M.T. (2010): *Angiostrongylus vasorum*: the 'French heartworm'. *Parasitol. Res.*, 107: 765 – 771
- FOSTER, S.F., MARTIN, P., BRADDOCK, J.A., MALIK, R. (2004): A retrospective analysis of feline bronchoalveolar lavage cytology and microbiology (1995 – 2000). *J. Fel. Med. Surg.*, 6: 189 – 198
- GIANNELLI, A., COLELLA, V., ABRAMO, F., NASCIMENTO RAMOS, R.A., FALSONE, L., BRIANTI, E., VARCASIA, A., DANTAS-TORRES, F., KNAUS, M., FOX, M.T., OTRANTO, D. (2015): Release of lungworm larvae from snails in the environment: potential for alternative transmission pathways. *PLoS Negl. Trop. Dis.*, 9, e0003722
- KOCH, J., WILLESEN, J.L. (2009): Canine pulmonary angiostrongylosis: An update. *Vet. J.*, 179: 348 – 359
- LATROFA, M.S., LIA, R.P., GIANNELLI, A., COLELLA, V., SANTORO, M., D'ALESSIO, N., CAMPBELL, B.E., PARISI, A., DANTAS-TORRES, F., MUTAFCHIEV, Y., VENEZIANO, V., OTRANTO, D. (2015): *Crenosoma vulpis* in wild and domestic carnivores from Italy: a morphological and molecular study. *Parasitol. Res.*, 114: 3611 – 3617
- MAGI, M., MACCHIONI, F., DELL'OMODARME, M., PRATI, M.C., CALDERINI, P., GABRIELLI, S., IORI, A., CANCRINI, G. (2009): Endoparasites of red fox (*Vulpes vulpes*) in central Italy. *J. Wildl. Dis.*, 45: 881 – 885
- MCGARRY, J.W., MORGAN, E.R. (2009): Identification of first-stage larvae of metastrongyles from dogs. *Vet. Rec.*, 165: 258 – 261
- OTRANTO, D., CANTACESSI, C., DANTAS-TORRES, F., BRIANTI, E., PFEFFER, M., GENCHI, C., GUBERTI, V., CAPELLI, G., DEPLAZES, P. (2015): The role of wild canids and felids in spreading parasites to cats and dogs in Europe. Part II: Helminths and arthropods. *Vet. Parasitol.*, 213: 24 – 37
- REILLY, G.A., MCGARRY, J.W., MARTIN, M., BELFORD, C. (2000): *Crenosoma vulpis*, the fox lungworm, in a dog in Ireland. *Vet. Rec.*, 146: 764 – 765
- RINALDI, L., CALABRIA, G., CARBONE, S., CARRELA, A., CRINGOLI, G. (2007): *Crenosoma vulpis* in dog: first case report in Italy and use of the FLOTAC technique for copromicroscopic diagnosis. *Parasitol. Res.*, 101: 1681 – 1684
- SAEED, I., MADDOX-HYTTEL, C., MONRAD, J., KAPEL, C.M. (2006): Helminths of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Denmark. *Vet. Parasitol.*, 139: 168 – 179
- SRÉTER, T., SZÉLL, Z., MARUCCI, G., POZIO, E., VARGA, I. (2003): Extraintestinal nematode infections of red foxes (*Vulpes vulpes*) in Hungary. *Vet. Parasitol.*, 115: 329 – 334
- STOCKDALE, P.H.G., HULLAND, T.J. (1970): The pathogenesis, route of migration, and development of *Crenosoma vulpis* in a dog. *Pathol. Vet.*, 7, 28 – 42
- TAYLOR, C.S., GARCIA GATO, R., LEARMOUNT, J., AZIZ, N.A., MONTGOMERY, C., ROSE, H., COULTHWAITE, C.L., MCGARRY, J.W., FORMAN, D.W., ALLEN, S., WALL, R., MORGAN, E.R. (2015): Increased prevalence and geographic spread of the cardiopulmonary nematode *Angiostrongylus vasorum* in fox populations in Great Britain. *Parasitology*, 142: 1190 – 1195
- TRAVERSA, D., DI CESARE, A., CONBOY, G. (2010): Canine and feline cardiopulmonary parasitic nematodes in Europe: emerging and underestimated. *Parasit. Vectors*, 3: 62
- UNTERER, S., DEPLAZES, P., ARNOLD, P., FLUCKIGER, M., REUSCH, C.E., GLAUS, T.M. (2002): Spontaneous *Crenosoma vulpis* infection in 10 dogs: laboratory, radiographic and endoscopic findings. *Schweiz. Arch. Tierheilkd.*, 144: 174 – 179
- WETZEL, Z., MUELLER, R. (1935): The life cycle of *Crenosoma vulpis*, the lung worm of foxes, and ways and means of combat. *Fur Trade J. Can.*, 13: 16 – 17

**SURVEY OF GASTROINTESTINAL AND LUNG PARASITES IN SHELTER CATS FROM NORTHWESTERN PORTUGAL**

**Bárbara Matos, Ana Margarida Alho, Luís Madeira de Carvalho**

CIISA, Faculty of Veterinary Medicine, University of Lisbon, Portugal

Cats may harbour a large variety of parasite species, some of them responsible for important zoonosis, such as *Toxocara* spp. Other non-zoonotic parasites are increasingly reported throughout Europe and may cause illness of major clinical importance, like *Aelurostrongylus abstrusus*. Information regarding internal parasite occurrence in domestic cats from Portugal is scant or outdated. Thereby, an epidemiological survey was conducted in shelters from Braga and Viana do Castelo, two main urban centres in Northwestern Portugal, to study the current prevalence of gastrointestinal and lung parasites.

Between January and March 2016, 205 cat faecal samples were collected and analysed using qualitative coprological techniques: Willis Flotation, Natural Sedimentation, Faecal Smear and Baermann technique. Overall, 63.9% (131/205) were positive for at least one parasitic agent and 21% (43/205) showed co-infections. Nematodes were the most prevalent group followed by Protozoa, respectively detected in 92.4% and 21.4% of all the samples tested. The genera/species detected were *Toxocara* spp. with 45.9% (94/205), followed by *A. abstrusus* 22.4% (46/205), *Cystoisospora rivolta* 9.8% (20/205), *Ancylostomatidae* 5.9% (12/205) and *Cystoisospora felis* 5.4% (11/205).

This survey revealed a high prevalence level of parasitism among the cat population of Northwestern Portugal, namely by *Toxocara* spp., one of the most important zoonotic parasitic agents transmitted from companion animals to man. This high prevalence might be explained by the overcrowding conditions in shelters and lack of funding for regular prophylactic measures. In addition, the lungworm *A. abstrusus* was highly prevalent probably due to the Atlantic wet climate conditions (moderate temperatures and relative high humidity), that favours the development of its intermediate hosts. Cats adopted from shelters with asymptomatic or untreated parasitic infections pose ongoing risks for animal and human health. Data from this study highlight the urgent necessity to adopt strategies to prevent and control parasitic agents in domestic cats from this region.

